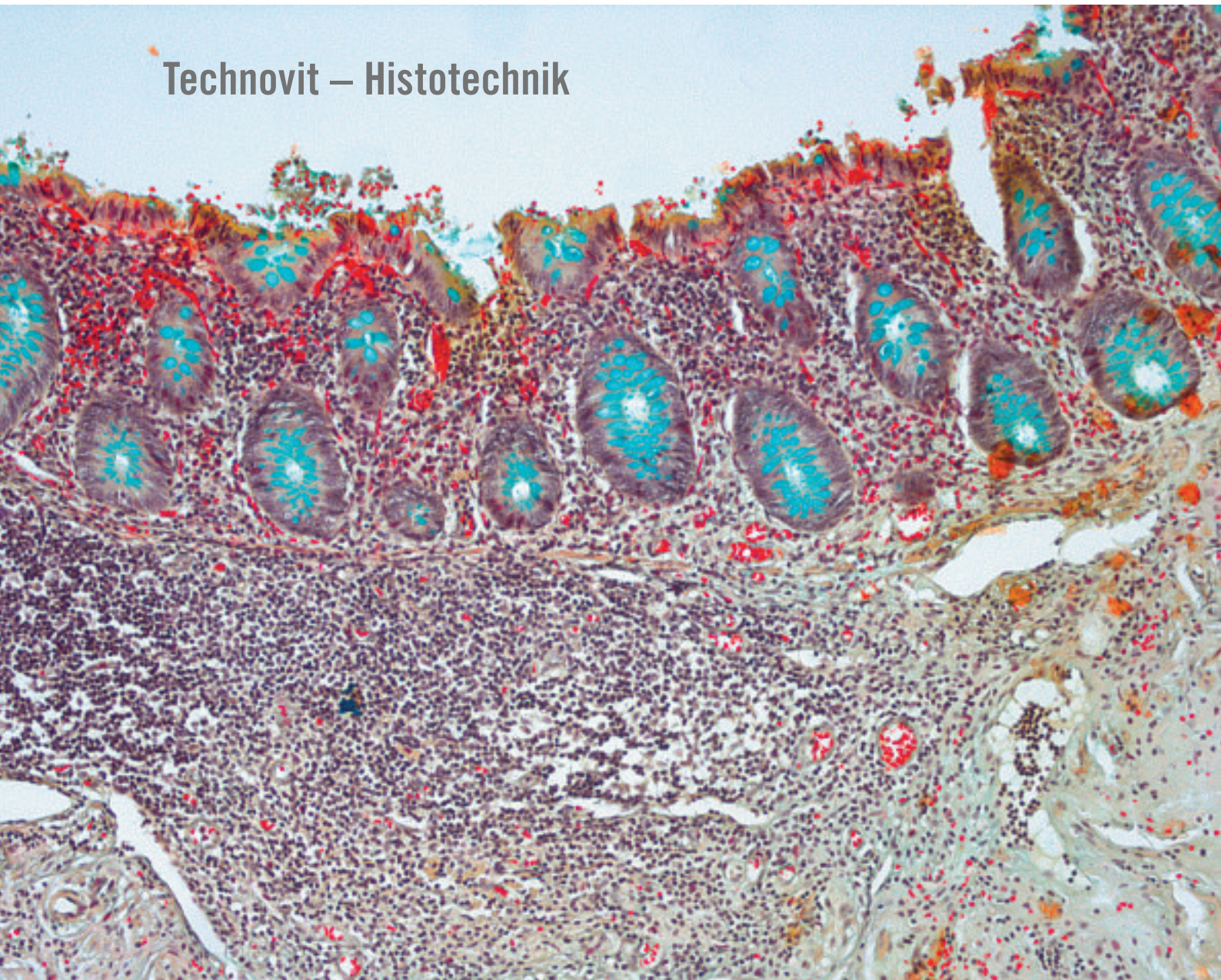


Technovit – Histotechnik



Polymerisationssysteme
für histologische Anwendungen

Technovit

Polymerisationssysteme für die Histotechnik

Die von Heraeus Kulzer, in Zusammenarbeit mit namhaften Wissenschaftlern und Instituten, entwickelten Systeme zur Einbettung von Gewebe in Kunststoff für histologische Untersuchungen haben sich in der Praxis seit Jahrzehnten bewährt. Sie werden zu Diagnose und Forschungszwecken in der Medizin, der Tiermedizin und der Botanik erfolgreich eingesetzt. Ebenso in der Schneidetechnik für industrielle Anwendungen und Biomaterialien.

Die Systeme 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 Heraeus Kulzer werden die wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Bedingungen für histologische Untersuchungen von Gewebe wesentlich verbessert.

- Einfache, rationelle 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.

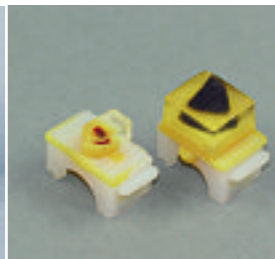
Die Ergebnisse enzymatischer, immunhistochemischer Untersuchungen und auch In-situ-Hybridisierung zeigen eine sensiblere und spezifischere Aktivität, da alle Technovit-Kunststoffe durch die spezielle Zusammenstellung der Polymerisationssysteme bei niedrigen Temperaturen und auch Minusgraden aushärten.



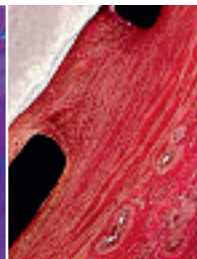
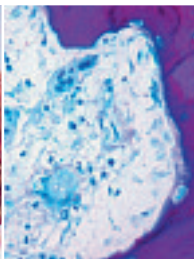
Inhaltsverzeichnis



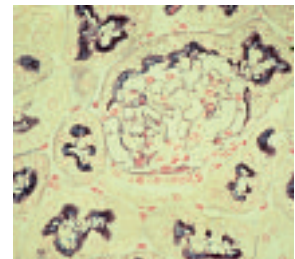
Polymerisations- systeme < 4-13



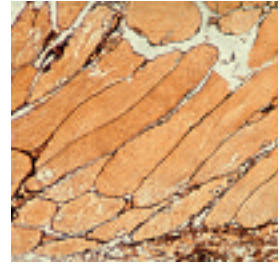
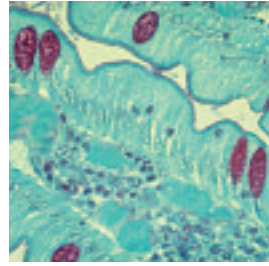
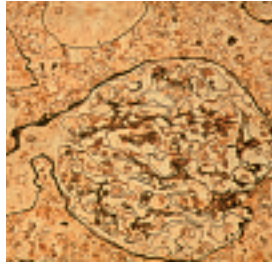
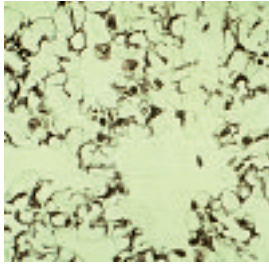
Zubehör < 14-17



Anwendungs- beispiele/Färbungen < 18-23



POLYMERISATIONSSYSTEME	4	Technovit 7100 – Schnitte für histologische und industrielle Anwendungen
	7	Technovit 8100 – Schnitte speziell für die Immunhistochemie
	10	Technovit 9100 – Schnitte & Schliffe
TECHNOVIT-ZUBEHÖR	14	Histoform S,Q und N
	14	Einbettformen speziell für Technovit 9100
	15	Technovit 3040 – Aufblocken
	15	Histobloc Trägerteil
	16	Technovit Histoblade
	16	Objektträgerpresse, Handprobenhalter
FÄRBEANLEITUNGEN & REAGENZIEN	18	Technovit 7100
	21	Technovit 9100



Technovit 7100

Schnitte für histologische und industrielle Anwendung

Technovit 7100 ist ein Kunststoffeinfettssystem auf Basis von HEMA* (2-Hydroxyethylmethacrylat). 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.

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.

Die Vorteile auf einen Blick

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

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 Anwendung werden direkt in die Infiltrationslösung gelegt oder auch ohne Vorbehandlung ausgehärtet.

Polymerisation

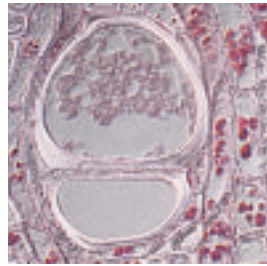
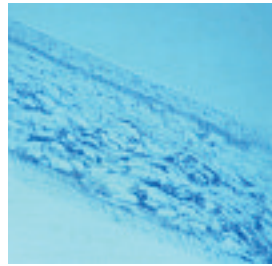
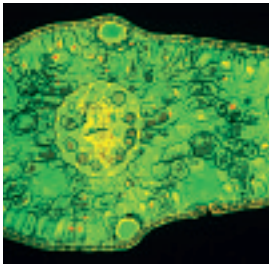
Das Polymerisationsgemisch nach Anleitung ansetzen und die Einbettmulden damit füllen. Sofort darin die infiltrierten Proben orientieren. Die Polymerisation erfolgt bei Raumtemperatur.

Polymerisationstemperatur in:

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

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

* HEMA ist auch unter der Bezeichnung GMA (Glycolmethacrylat) bekannt



Technovit 7100
findet in vielen Bereichen
Anwendung: organische
Präparate, Kunststoffe,
Folien & Papier, Fasern
und viele mehr ...

Weitere Anwendungsgebiete

Immer wenn es darum geht, Schnitte von den eingebetteten Materialien anzufertigen, 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 μ -Bereich. Mit dem auf dieses System abgestimmten Einwegmesser Technovit Histoblade können die Proben kostengünstig in hoher Qualität geschnitten werden.

Die Präparationen dieser Art von Proben unterscheidet sich nur geringfügig von den medizinischen Proben. In vielen Fällen ist das Einlegen in die Vorbereitungslösung nicht notwendig, wie bei Folien und Kunststoffen.

Hinweise zum Einbetten nicht medizinischer Gewebeprobe

- Bei Papier und Textilien ist eine Infiltration in der Vorbereitungslösung mit Vakuum zu empfehlen
- Biologische Präparate werden wie medizinische behandelt (fixiert, entwässert und anschließend infiltriert)
- Materialien, die weniger temperaturempfindlich sind, können auch als größere Proben eingebettet werden (Histoform S und Q, o. Ä.)



Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
64709003	Technovit 7100 Kombipack	1 x 500 ml Basislösung 5 x 1g Härter 1 1 x 40 ml Härter 2

Technische Daten

Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm ³ (DIN 53479)	1,07
Brechungsindex monomer	1,4540
polymer	1,5050
Lagertemperatur	max. 25 °C
Haltbarkeit	2 Jahre

Step by Step

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 Konzentration der Entwässerungsreihe zu gleichen Teilen mit Basislösung Technovit 7100 ansetzen.

Ca. 2 Stunden bei Raumtemperatur (20 °C) z. B. 50 ml 96 % Ethanol : 50 ml Basislösung Technovit 7100.

Infiltration

Herstellung der Infiltrationslösung:

- 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.

In einem genügend großen Volumen der Infiltrationslösung die Proben, je nach Größe, bis zu 24 Stunden (Raumtemperatur) oder länger bei 4 °C infiltrieren. Ein kurzes Vakuum (Wasserstrahlpumpe) und Agitation sind hilfreich.

Polymerisation

Herstellung der Polymerisationslösung:

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

ca. 3–5 Min. mischen.

Handelsübliche Pipettierhilfen und Einmalgefäß benutzen!

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

Die leicht klebrige Oberfläche (Inhibitionsschicht) kann mit einem fusselfreien Einmal-Tuch abgewischt werden.

Eine zu hohe Luftfeuchtigkeit begünstigt eine stärkere Inhibitionsschicht!

Abhängigkeit der maximalen Polymerisationstemperatur von der Umgebungstemperatur

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

Aufblocken und Archivieren

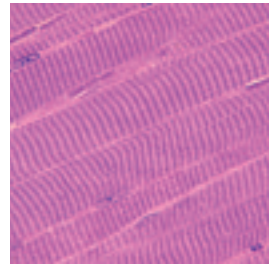
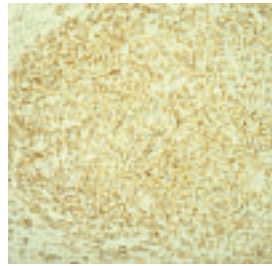
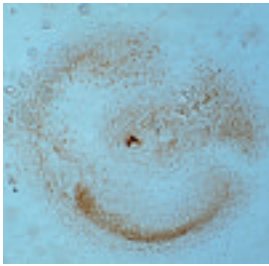
Um die ausgehärteten Proben aus der Teflonform entnehmen zu können, werden diese mit Histobloc® und Technovit® 3040 aufgeblockt (s. Seite 15).

Weiterverarbeitung

Die Blöcke in die Backenklemmvorrichtung am Rotationsmikrotom fest einspannen. Zum Schneiden das Technovit Histoblade (in Kombination mit dem Heraeus Messerhalter) oder Hartmetallmesser (Messerwinkel beachten) benutzen. Den Schnitt trocken mit einer Pinzette abnehmen und auf ein Streckbad (Aqua dest.) aufbringen. Auf saubere, fettfreie, auch beschichtete, 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 1-µ-Schnitt muss für die gewünschte Farbtintensität länger gefärbt werden als ein 5-µ-Schnitt.

Herstellung der Lösungen im Überblick

Lösung	Ethanol	Basislösung Technovit 7100	Härter 1 Technovit 7100	Infiltrations- lösung	Härter 2 Technovit 7100	Anwendungs- temperatur
Präinfiltration	z. B. 50 ml	z. B. 50 ml				Raumtemperatur
Infiltration		100 ml	1 g (1 Beutel)			Raumtemperatur / 4 °C
Polymerisation				15 ml 30 ml	1 ml 1,5 ml	Raumtemperatur / 37 °C Raumtemperatur / 37 °C



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

Technovit 8100

Schnitte speziell für die Immunhistochemie

Technovit 8100 ist ein Kunststoffeinfettssystem auf Basis von HEMA für lichtmikroskopische Untersuchungen. Es eignet sich zum Einbetten von allen Geweben in Medizin, Zoologie und Botanik. Schnitte von 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 Härtung 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 10 °C bis 0 °C durch das spezielle Katalysatorsystem und die Teflonformen
- Uniforme Härte des Blockes, dadurch gleichmäßige, dünnste Schnitte
- Geringe Schrumpfungsfaktoren, 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 orientieren. 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.

Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
64709012	Technovit 8100 Kombipack	1 x 500 ml Basislösung 5 x 0,6 g Härter 1 1 x 30 g Härter 2 1 x 500 Stk. PE-Folien

Technische Daten	
Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm ³ (DIN 53479)	1,08
Brechungsindex monomer	1,4485
polymer	1,4990
Lagertemperatur	max. 25 °C
Haltbarkeit	2 Jahre



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 dichtschießende 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 (1mm Dicke) in 2%-igem Paraformaldehyd in Phosphatpuffer pH 7,4 bei 4 °C 3–4 Stunden fixieren. Anschließend 12 Stunden (über Nacht) in Phosphatpuffer pH 7,4 mit einem Zusatz von 6,8%-iger Saccharose bei 4 °C nachbehandeln.

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

Infiltration
Herstellung der Infiltrationslösung:
■ 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 stellen. 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
Herstellung der Polymerisationslösung:
■ Infiltrationslösung, 4 °C 15 ml
■ + Technovit 8100 Härter 2, gekühlt 0,5 ml

Mit handelsüblichen Pipettierhilfen abmessen und im PE- oder Glasgefäß gut mischen. Danach die infiltrierte Probe ca. 5 Minuten vorsichtig im geschlossenen Gefäß zusammen mischen.

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

Mit einer Einmalpipette die Mulden der Histoform vollständig füllen, das Gewebe darin orientieren und sofort

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 (1 Beutel)			4 °C
Polymerisation				15 ml	0,5 ml	4 °C

mit der transparenten PE-Folie abdecken. Um die Mulde luftdicht zu verschließen, können auch mehrere Folien für eine Mulde benutzt 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.

Histoform Q

Material	Raumtemp. ca. +20 °C	Kühlschrank +4 °C	Kühlschrank auf Eis 0 °C
Technovit 8100 30:1	–	69	48
Technovit 8100 35:1	–	52	42
Technovit 8100 40:1	–	50	41

Histoform S

Material	Raumtemp. ca. +20 °C	Kühlschrank +4 °C	Kühlschrank auf Eis 0 °C
Technovit 8100 30:1	69	21	12
Technovit 8100 35:1	67	19	11
Technovit 8100 40:1	65	–	–

Aufblocken und Archivieren

Nach der Härtung die Folien bei Raumtemperatur mit einer Pinzette entfernen. Um die ausgehärteten Proben aus der Teflonform entnehmen zu können, werden diese mit Histobloc® und Technovit® 3040 aufgeblockt (s. Seite 15). Nicht sofort benötigte Blöcke (für die Immunhistochemie) in Plastikbeuteln oder ähnlichem kühl lagern.

Weiterverarbeitung

Beste Schneideergebnisse erzielt man mit einem Rotationsmikrotom, mit dem Technovit Histoblade in Kombination mit dem Heraeus Messerhalter oder einem Hartmetallmesser (Glas-Diamantmesser). Die Blöcke fest im Backenklammersystem am Mikrotom einspannen. Die Schnitte mit einer Pinzette trocken abnehmen und auf einem Streckbad (Aqua dest.) aufbringen. Direkt 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.

Objektträgerbeschichtung

Zum Beispiel Objektträger 15 Minuten in eine Lösung von 0,5 % Alcianblau (8GXL Sigma) bei 65 °C tauchen oder den Objektträger mit 0,1 % Poly-L-Lysine flüssig (Sigma) beschichten. Alle handelsüblichen beschichteten Objektträger können benutzt werden.

Die Schnitte müssen mindestens 2 Stunden bei 37 °C getrocknet sein. Die nichtentplasteten Schnitte direkt in die Farblösung bringen oder mit der enzymatischen Vorbehandlung beginnen.

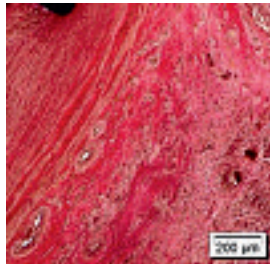
Ein Beispiel

- Enzymatische Vorbehandlung: Schnitt 5–10 Minuten in 0,01 % Trypsin mit 0,1 % CaCl₂ (Calciumchlorid) pH 7,8 inkubieren (37 °C)
- Mehrmals in Phosphatpuffer (PBS) 5 Minuten auswaschen
- 2 Stunden bei 37 °C mit Primärantikörper inkubieren, mehrmalig wechseln
- 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
- Diaminobenzidin (DAB) wie bei Kryostat-Schnitten
- 10–15 Sekunden Gegenfärbung mit Hämatoxyllin
- Unter fließendem Wasser 3 Minuten bläuen
- Mit Glyzerin-Gelatine eindecken

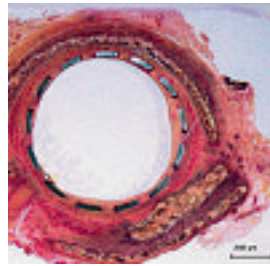
Die Immunbestimmung ist mit der AP-, PAAP-, APAAP-, ABC-, Avidin-Biotin-, Strept-Avidin- und der Immunfluoreszenz-Methode möglich.

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

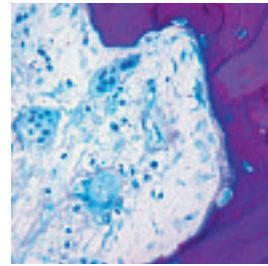
Bei dem ständig wechselnden Angebot an neuen Produkten für Histochemie und Immunhistochemie ist es immer ratsam, sich an den jeweiligen Herstellerangaben zu orientieren.



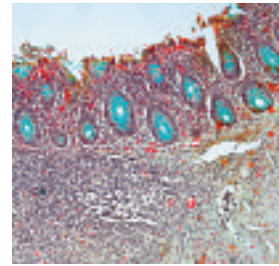
Ausschnitt Gefäßprothese
Elastika Van Gieson



Gefäßprothese (Stent)
Elastika Van Gieson



Mehrkernige Riesenzellen
Toluidinblaufärbung



Appendix Pentachromfärbung
nach Movat

Technovit 9100

Schnitte und Schliffe

Technovit 9100 ist ein Kunststoffeinfettssystem 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 Weichgewebe 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 Glasobjektträgern aufgeklebt und entplastet werden.

Anwendungsbereiche

- **Hartschnitt-Technik zur Herstellung von Dünnschnitten**
Beispiele: Beckenkambioptien, 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 Kieferabschnitte mit Füllungen, Kronen und Bücken, 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 bis -20 °C, je nach Volumen), die eine vollständige Ableitung der Polymerisationswärme garantiert.

Die Vorteile des Systems auf einen Blick

- Polymerisation bei Minusgraden
- Reproduzierbarkeit der Einbettungsergebnisse und Zuverlässigkeit durch ständige und dokumentierte Qualitätskontrollen
- Uniforme Härte des Blocks
- Der PMMA-Block bleibt transparent
- Bessere Ergebnisse bezüglich Schneiden und Färben, da Technovit 9100 ein Hydrophilierungsmittel enthält
- Sowohl für Dünnschnitt- als auch Säge- und Schliff-technik einsetzbar
- Enzym- und Immunhistologie und In-situ-Hybridisierung möglich (Schnitte und Schliffe)

Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
64715444	Technovit 9100 Kombipack	1 x 1000 ml Basislösung 1 x 120 g PMMA-Pulver 8 x 1 g Härter 1 1 x 10 ml Härter 2 1 x 5 ml Regler
66006735	Technovit 9100 Basisflüssigkeit	5000 ml
66010251	Technovit 9100 PMMA-Pulver	1000 g
64709022	Technovit 9100 Härter 1	100 x 1 g
66039185	Technovit 9100 Härter 2	9 x 10 ml
66039184	Technovit 9100 Regler	12 x 5 ml

Die Komponenten

Technovit 9100 Basisflüssigkeit – Komponente (1)

Die Basislösung Technovit 9100 besteht aus stabilisiertem Methylmethacrylat. 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 eine deutliche Absenkung des Polymerisationsschrumpfes, 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 zusammen mit dem Härter 2 die Polymerisation startet.

Technovit 9100 Härter 2 – Komponente (4)

Die Härterflüssigkeit 2 wirkt katalytisch auf den Härter 1, um auch bei sehr niedrigen Temperaturen [$< 0\text{ °C}$] 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.



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 à 1 g	3
Technovit 9100 Härter 2	10 ml	4
Technovit 9100 Regler	5 ml	5

Die Anwendung

Fixation – Vorbehandlung des Gewebes

Die Fixierung erfolgt je nach Größe des Gewebes und dem nachzuweisenden Antigen/Enzym für 12 bis 24 Stunden in unterschiedlichen Fixierlösungen. Eine Überfixation ist in jedem Fall zu vermeiden.

Zum Nachweis der Antigene/Enzyme sind folgende Fixierungsmethoden möglich:

- 4 % neutrale gepufferte Formalinlösung (0,1 M Phosphat- oder 0,02 M Phosphatpuffer für Beckenkammbiopsien)
- 10 % gepufferte Formalinlösung (0,1 M Phosphatpuffer)
- Fixierlösung nach Schaffer (Formol/Alkohol)
- 1,4 % Paraformaldehyd-Lösung in Kälte (+4 bis +8 °C) für 24 – 28 Stunden (empfindlicher Enzymnachweis wie z. B. alkalische Phosphatase, fixationsempfindliche Antigene)

Dehydration, Intermedium und Immersion (Präinfiltration 1 – 3, Infiltration)

Die Verarbeitung darf ausschließlich in PE- oder Glasgefäßen erfolgen!

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

Die Immersion (Präinfiltration 1 – 3, Infiltration) erfolgt in 3 Stufen (im Entwässerungsautomaten bis zur Präinfiltration 2). 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).

Dehydration, Intermedium und Präinfiltration

Stufe	Lösung	Konzentration	Zeit/ Temperatur
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

TIPP:

Für besonders große Proben (Endoprothesen) kann zusätzlich ein handelsübliches PMMA-Granulat benutzt werden. Dadurch wird die Menge an benötigter Polymerisationslösung reduziert.

Entstabilisierung der Basislösung – Verarbeitung der Komponenten

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

Chromatographiesäule mit ca. 50 g Al₂O₃ (aktiv, basisch, 90) füllen und langsam Technovit 9100 Basislösung (Materialnummer 1) durchlaufen lassen. Eine Säulenfüllung mit Al₂O₃ 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 entstablisierter Basislösung gearbeitet werden. Wenn mit entstablisierter MMA-Basislösung gearbeitet wird, kann die geringere Menge Peroxid verwendet werden für die Infiltrationslösung und Stammlösung A.

Herstellung der Lösungen■ **Gebrauchslösung**

Herstellung der Präinfiltrations-, Infiltrations- und Stammlösungen nach genauer Vorschrift entsprechend der Gebrauchsinformation für Technovit 9100. Lagertemperaturen beachten!

■ **Polymerisationslösung**

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

Herstellung der Gebrauchslösungen

Komponenten-Nr.	1	2	3	4	5		
Bezeichnung	Basislösung	PMMA-Pulver	Härter 1	Härter 2	Polymerisationsregler	Bearbeitungstemperatur	Lagerfähigkeit
Präinfiltration 3	200 ml		1 g			Raumtemperatur	1/2 Jahr bei –20 °C
Infiltration	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

Erklärung „ad“: Bei der Zubereitung von Lösungen aus Festsubstanz wird das Volumen erst endgültig eingestellt, wenn gesamter Stoff gelöst ist. Bitte Messkolben verwenden.

*Bei Verwendung von stabilisiertem Technovit 9100 NEU muss die größere Menge an Härter 1 eingesetzt werden.

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. Form luftdicht verschließen!

Die Polymerisation erfolgt im Bereich von –2 °C bis –15 °C.

Zum Beispiel:

Einbettform 25 mm (10 ml) und dem Schiffcheneinsatz: –2 °C bis –4 °C in ca. 24 Std.

Die Polymerisation ist in etwa 24 Stunden abgeschlossen. Die Polymerisationszeiten sind abhängig vom Polymerisationsvolumen sowie der Temperatur. Je größer das Volumen der Einbettform, umso niedriger die Temperatur wählen!

Größere Proben sind somit bei niedrigeren Temperaturen auszuhärten. 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 $\pm 0,5$ °C erzielt. Während der Polymerisation die Gefäße nicht öffnen!

Aufblocken und Archivieren

Haben sich die Proben nach der Aushärtung auf Raumtemperatur erwärmt, wird beim Einsatz der Histoform N mit dem Histobloc® N und Technovit® 3040 aufgeblockt (s. Seite 15). Vorher 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.

Verarbeitung der Polymerisate

Je nach Fragestellung erfolgt die Weiterverarbeitung durch Hartschnitt- oder Trenn-Dünnschliff-Technik

- Herstellung von Hartschnitten mit entsprechenden Hartschnittmikrotomen

- Das Gleiche gilt für Semidünnschnitte unter Verwendung von Glas- und Diamantmessern. Die Blöcke werden zuvor getrimmt
- Verwendung von 16-cm-Hartmetallmessern mit Schliff D
- Zum Schneiden der polymerisierten Technovit-9100-Blöcke 30%-iges Ethanol, sog. Schneideflüssigkeit, verwenden
- Schnitte auf beschichtete Objektträger aufziehen, mit 50%-igem Ethanol, sogenannte Streckflüssigkeit, strecken und mit PVC-Folie abdecken
- Überschüssige Flüssigkeit mit Filterpapier absaugen, Objektträger stapeln und unter Druck (Schnittpresse) über Nacht bei +50 °C trocknen. Presse erst nach Abkühlung öffnen. Abdeckfolie vorsichtig vom kalten Objektträger abziehen.

Schnitt-Entplastung

Xylol	2 – 3 x 20 Min.	Raumtemperatur
2-Methoxyethylacetat (MEA)	1 x 20 Min.	Raumtemperatur
Aceton reinst	2 x 5 Min.	Raumtemperatur
Aceton reinst	2 x 2 Min.	Raumtemperatur
Aqua dest.		
Alternativ:		
2-Methoxyethylacetat (MEA)	3 x 20 Min.	Raumtemperatur
Absteigende Alkoholreihe		

3. Trenn-Dünnschliff-Technik

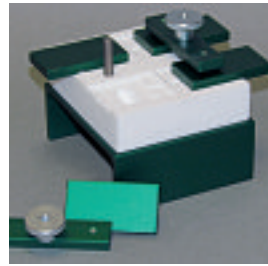
Trennen in Punktkontakt-Technologie sowie Schleifen im Flächen- oder Linienkontaktverfahren mit entsprechenden Geräten.

Technische Daten

Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm ³ (DIN 53479)	1,07
Brechungsindex	
Monomer	1,4175
Polymer	1,4720
Lagertemperatur	max. 25 °C

Empfohlene Laborausstattung für die Anwendung des Technovit 9100 Systems

- Chromatographiesäule
- Al₂O₃ (aktiv, basisch, 90)
- regelbarer Kühlschrank
- Glasexsikkator
- Vakuumpumpe
- Magnetrührer



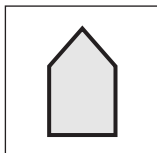
Zubehör Technovit – Histotechnik

Histoformen

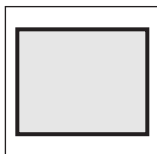
Um den Temperaturverlauf bei der Polymerisation in niedrigen Bereichen zu halten, wurden spezielle Einbettformen aus Teflon mit Edelstahlboden zur Wärmeabführung entwickelt. Darüber hinaus ermöglicht das spezielle Profil der Einbettformen anwendungs- und schneidfreundliche Einbettungen.

Die Vorteile auf einen Blick:

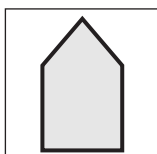
- Einbettmaterial sparendes Volumen
- Schneidfreundliche Form (S + N)
- Lange Lebensdauer
- Leichtes Herauslösen der Einbettungen durch konische Form und das Material Teflon
- Ausgezeichnete Temperaturabführung durch Edelstahlboden
- Genaues und leichtes Befestigen der Histobloc-Trägereile durch spezielle Aussparung



Histoform S:
Technovit 7100/8100
 10 Mulden
 Maße: B x H x T:
 ca. 10 x 16 x 6,5 mm



Histoform Q:
Technovit 7100/8100
 für Aufnahmen von größeren Präparaten
 10 Mulden
 Maße: B x H x T:
 ca. 20 x 16 x 10 mm



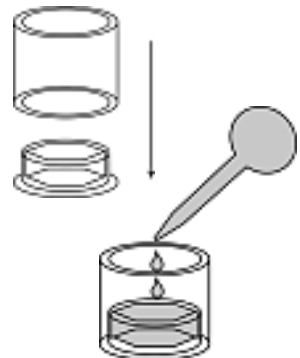
Histoform N:
Technovit 9100
 mit 4 Abdeckplatten
 4 Mulden
 Maße: B x H x T:
 ca. 12 x 20 x 10 mm

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)

Anwendung:

1. Boden der Form abnehmen, Schiffchen und Form zusammenstecken



2. Einsatz auffüllen

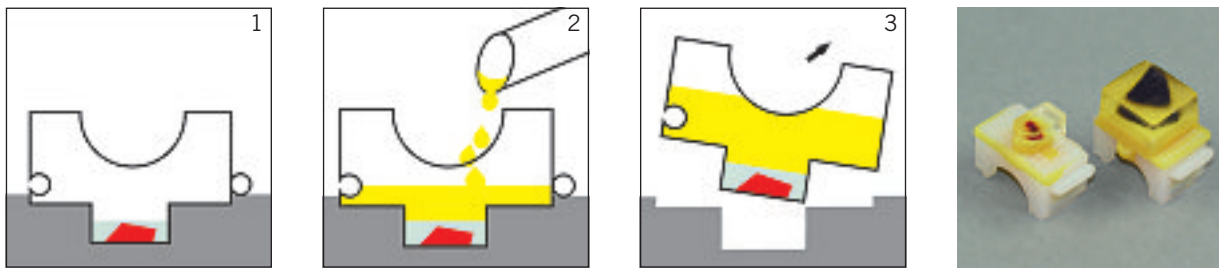


3. Probe im Schiffchen orientieren

4. Bis zum Rand auffüllen. Vakuum ziehen (ca. 10 min. im Exikkator) max. 200 mbar, Vakuum ablassen



5. Deckel aufsetzen (luftdicht). In den Kühlschrank bei -2 °C / -4 °C stellen



Technovit 3040 / Histobloc

Technovit 3040 ist ein schnellhärtender 2-Komponenten-Kunststoff auf Methymethacrylat-Basis (MMA). Zum Aufblocken und Befestigen eingebetteter Kunststoffproben mit dem Histobloc oder auch zur Sockeleinbettung. Aufgrund der chemischen Zusammensetzung ist eine stabile, dauerhafte Verbindung mit dem ausgehärteten Block Technovit 7100, Technovit 8100 oder Technovit 9100 gegeben.

Histobloc – Trägereile

Die Histobloc-Träger sind adaptierbar für die Histoform S + Q oder auch für die Histoform N.

Aufblocken

Nachdem Technovit 7100, Technovit 8100 oder Technovit 9100 ausgehärtet ist, wird das Trägereile Histobloc in die dafür vorgesehene Aussparung der Tefloneinbettform Histoform S/Q oder Histoform N eingelegt [Bild 1]. Wurde mit Technovit 8100 eingebettet, ist vor dem Aufsetzen des Trägereiles Histobloc die Abdeckfolie von der Probe zu entfernen.

Bei der Histoform N wird der Aluminiumdeckel abgenommen und die aufgelegte PE-Folie entfernt.

Technovit 3040 möglichst dickflüssig anrühren (Mischungsverhältnis 2–3 Volumenanteile Pulver zu 1 Volumenanteil Flüssigkeit). Das angemischte Material in die Aussparung des Histobloc® gießen. [Bild 2]

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 [Bild 3]. 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.

Einspannen der Probe im Mikrotom

Durch die rechteckige Form des Histoblocs ist ein direktes Einspannen in die Backenklemmvorrichtung des Rotationsmikrotoms möglich.

Hinweis für Technovit 9100:

Bei Verwendung der runden Histo-Einbettform für Technovit 9100 kann die Probe direkt in den Rundprobenhalter eingespannt werden, aufblocken ist nicht notwendig.

Lagern und Archivieren der Proben 7100 und 8100

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.





Technovit Histoblade und Messerhalter

Das Technovit Histoblade ist speziell zum Schneiden von in HEMA (2-Hydroxyethylmethacrylat) eingebetteten Gewebeproben sowie auch Materialien in der industriellen Anwendung bis zu 1µ Schnittstärke geeignet. Zusammen mit dem außerordentlich stabilen Klingenhalter steht somit eine preisgünstige Alternative zu anderen Messern zur Verfügung.

Die Vorteile:

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

Der Messerwinkel beim Einsatz des Technovit Histoblade sollte bei Mikrom/Thermo-Rotationsmikrotomen bei 9° liegen. Sie benötigen einen Messerhalter „NR“, „SL“ oder „N“. Bei Reichert-Jung/Leica-Rotationsmikrotomen bei 0°. Sie benötigen einen Messerhalter „NZ“. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Mikrotomlieferanten.

Maße

Histoblade: 60 x 19 x 1 mm, 2 Bohrungen à 4 mm

Messerhalter: 170 x 34 x 10 mm

Objektträgerpresse

Presse aus Metall zum planen Aufpressen der MMA-Schnitte auf dem Objektträger beim Trocknungsvorgang. Mindestens 50 – 70 Objektträger passen in die Objektträgerpresse (zwischen jeden Objektträger ein Filterpapier legen).

Abdeckfolien

PE-Folie zum Abdecken der MMA-Schnitte auf dem Objektträger nach dem Strecken (z.B. Technovit 9100), Format: 25 x 75 mm

Die Folie wird auch zum sauberen Verschließen der Histoform N mit der Aluplatte verwendet.

Handprobenhalter und Einsätze

Der Handprobenhalter ist ein wichtiges Hilfsmittel für die Erstellung von planparallelen Dünnschliffen und der Zielpräparation bei Anschliffen.

Handprobenhalter H

Für die Anfertigung von Dünnschliffen wird der Handprobenhalter „H“ (= Histologie) verwendet.

Auf der planen Edelstahloberfläche des Handprobenhalters entweder einen runden oder rechteckigen Glas- oder PMMA-Objektträger, auf dem die Probe (planparallel) mit einem transparenten Kleber aufgebracht ist, anpressen. Dazu kann ein Tropfen Wasser, Öl oder Kanadabalsam verwendet werden. Proben können auch direkt auf die Metallfläche geklebt werden.

Durch die Noniuseinstellung am Einstellring des Handprobenhalters ist es möglich, einen definierten Materialabtrag zu erzielen. Der Feststellring verhindert ein Verstellen des vorgegebenen Maßes während des Schleifvorganges. Der Keramikring gewährleistet ein sicheres Abtragen bis zur gewünschten Ebene und verhindert ein Überschleifen.

Handprobenhalter M plus Einsätze

Von einer eingebetteten Probe kann auch ein Anschliff für die Zielpräparation angefertigt werden. Dazu verwendet man den Handprobenhalter „M“ (= Materialographie). Der Standarddurchmesser ist 40 mm. Für kleinere Durchmesser können in den Standardhalter die Einsätze 32 mm, 30 mm und 25 mm eingesetzt werden.

Soll von einem Anschliff ein Dünnschliff erstellt werden, ist es möglich, in den Handprobenhalter M (Standard 40mm) den Einsatz H einzusetzen. Dann kann wie in Abschnitt Handprobenhalter H vorgefahren werden.

Liefereinheiten

Art.-Nr.	Beschreibung / Inhalt
66038248	Histoform N, Einbettform aus Teflon, Abdeckplatten aus Aluminium 1 Stk.
64708992	Histoform Q, Einbettform aus Teflon, 1 Stk.
64708991	Histoform S, Einbettform aus Teflon, 1 Stk.
64708955	Einbettform 25 mm, 1 Pk. (3 Zylinder, 3 Deckel)
66009903	Schiffchen-Einsatz für Einbettform 25 mm, 1 Pk. (3 Stk.)
64713126	Einbettform 15 mm, 1 Pk. (3 Zylinder, 3 Deckel)
64708956	Einbettform 30 mm, 1 Pk. (3 Zylinder, 3 Deckel)
64708957	Einbettform 40 mm, 1 Pk. (3 Zylinder, 3 Deckel)
64713127	Einbettform 50 mm, 1 Pk. (3 Zylinder, 3 Deckel)
64708805	Technovit 3040 gelb Kombipackung, 1 x 100g / 1 x 80 ml
64708806	Technovit 3040 gelb Pulver, 1000g
66022678	Technovit Universalliquid, 500 ml
64712817	Histobloc für Histoform N, 50 Stk.
64708995	Histobloc für Histoform S & Q, 100 Stk.
66021102	Anrührbecher
64701106	Spatel
64701107	Löffel
64708996	Mikrotom-Messerhalter, 17 cm
66045730	Technovit Histoblade 1 x 50 Stk.
66031158	Handprobenhalter H
66031155	Handprobenhalter M Ø 40 mm
66031159/60/61	Einsatz für Handprobenhalter M 25, 30, 32
66031157	Einsatz H
64712819	Objektträgerpresse
64712818	Polyethylenfolien 75 x 25 mm, 200 Stk.

Grundlegende Informationen

zur Anwendung der Technovit Histotechnik

Anwendungshinweis

Bei den beschriebenen Einbettssystemen handelt es sich um Chemikalien, daher sind einschlägige Laborvorschriften und -richtlinien, die den Umgang mit Chemikalien regeln, zu beachten.

- Monomere nicht mit Arbeitsmitteln aus Metall in Verbindung bringen (z. B. Rührstab oder Pinzette aus Metall)
- Reinigen der Gefäße ohne Spülmittel
- MMA-verunreinigte Gefäße mit Aceton/Alkohol reinigen
- Reste in Lösungsmittelabfall entsorgen oder Kunststoffabfall polymerisieren
- Ausschließlich PE- oder Glasgefäße benutzen
- Chromatographiesäule (zum Entstabilisieren von Technovit 9100 Basislösung) direkt nach Benutzung mit Aceton/Alkohol reinigen
- Entsorgung von Aluminiumoxid mit Stabilisator: unter dem Abzug auf Aluminiumfolie abdampfen, in Restmüll geben oder in einer Reststofftonne für kontaminierte Stoffe entsorgen
- Zum Lösen des PMMA-Pulvers in Technovit 9100 Basislösung einen Magnetrührer ohne Heizplatte verwenden

Entsprechende Sicherheitsdatenblätter sind abrufbar unter: www.technovit.de/Service/Downloads

Wir danken für die fachliche Unterstützung:
HIK-Hannover, Maren Cassens,
Histologie für Implantate und Knochen,
Feodor-Lynen-Straße 21, 30625 Hannover.

Technovit 7100

Routinefärbungen, Enzymhistochemie nach Gerrits

HÄMATOXYLIN - EOSIN

Färbeverfahren

1. Die Schnitte färben in Hämatoxylin nach Gill*
(die Farbstofflösung filtrieren) 15 Min.
2. Bläuen in Leitungswasser 10 Min.
3. Spülen in Aqua dest.
4. Schnitte gegenfärben mit Eosin 2–5 Min.
5. Entwässern über Ethanol 96 % und 100 %
6. Klären mit Xylen und eindecken in Eukitt

Ergebnis

Zellkerne	blau
basophiles Cytoplasma	blau
acidophiles Cytoplasma	rosa
Muskelgewebe	rosa
Bindegewebe	rosa

Lösungen

Hämatoxylin nach Gill

Hämatoxylin (C.I. 75290)	6 g
Natriumjodat	0,6 g
Aluminiumsulfat	52,8 g
Aqua dest.	690 ml
Ethylenglykol	250 ml
Eisessig	60 ml

Eosin

Eosin Y-(alkoholisch) C.I. 45380	0,5 g
Ethanol 96 %	100 ml
Eisessig	2 Tropfen

*Nach Färbung mit Hämatoxylin (1) kann die Kunststoffmatrix mit 0,5 ml HCL (36 %) in Ethanol 70 % entfärbt werden: kurz eintauchen und danach schnell in Leitungswasser weiterverarbeiten (2).

PERIODIC – ACID – SCHIFF (PAS)

Färbungsverfahren

1. 0,4 % Perjodsäure 30 Min., 56 °C
2. Spülen in Leitungswasser
3. Aqua dest. 3 x spülen
4. Schiffs Reagenz 15 Min.
5. Kräftig in Leitungswasser spülen
6. Spülen in Aqua dest.
7. Schnitte mit Hämatoxylin nach Gill gegenfärben 10 Min.
8. Bläuen in Leitungswasser 10 Min.
9. Entwässern, klären mit Xylen und eindecken in Eukitt

Bemerkung: Um einen unspezifischen rosa Farbschimmer zu vermeiden, kann man auch anstatt mit Leitungswasser (5) mit Sulfittwasser spülen, siehe auch Feulgen.

Ergebnis:

Zellkerne	blau
Glykogen	violett / rot
Basalmembranen	violett / rot
Mucin	violett / rot

Lösungen:

Schiffs Reagenz

Lösung 1: Pararosanilin (C.I. 42500)	0,5 g
1 N Salzsäure	15 ml
Lösung 2: Kaliummetabisulfit ($K_2S_2O_5$)	0,5 g
Aqua dest.	85 ml

Lösung 2, Lösung 1 zufügen. Nach 24 Stunden (im Dunkeln) wird die hellbraune Lösung mit 200 mg Knochenkohle (ungefähr 2 Min.) entfärbt und anschließend filtriert.

Das farblose Reagenz (Leucofuchsin) im Kühlschrank aufbewahren.

Gill's Hämatoxylin: s. Hämatoxylin-Eosin

FEULGEN

Färbungsverfahren

1. Hydrolisieren in Salzsäure 5 N 20 Min. ZT
2. Spülen in Aqua dest. 3 x
3. Schiffs Reagenz 15 Min.
4. Natriumhydrogensulfit 0,5 % 3 x 2 Min.
5. Kräftig mit Leitungswasser spülen
6. Entwässern, klären mit Xylen und eindecken in Eukitt

Ergebnis

DNS	violett / rot
andere Gewebeelemente	farblos

Lösungen

Schiffs Reagenz

Salzsäure 5 N

42 ml Salzsäure 36 % bis 100 ml auffüllen

Natriumhydrogensulfit

$NaHSO_3$	0,5 g
Aqua dest.	100 ml

GIEMSA

Färbungsverfahren

1. Schnitte färben in der Giemsa-Lösung (20 %) 1,5 Std. ZT
(Giemsa Merck: 1:5 mit Aqua dest. verdünnen)

2. Kurz in Essigsäure-Lösung:
4 Tropfen auf 100 ml Aqua dest. 2 Sekunden
3. Alkohol 96 % eintauchen
4. Alkohol 96 % eintauchen
5. Isopropanol 3 x 2 Min.
6. Klären mit Xylen und eindecken in Malinol

Ergebnis

Zellkerne	violett
Cytoplasma	blau
Erythrozyten	rosa

BERLINERBLAU REAKTION NACH PERLS**Färbungsverfahren**

1. Kaliumferrocyanid-Lösung 15 Min.
Die Lösung erst auf 60 °C erwärmen und anschließend filtrieren
2. Spülen in Aqua dest.
3. Safranin O. 0,2 % 2–5 Min.
4. Spülen in Essigsäure 1 %
5. Entwässern, klären mit Xylen und eindecken in Eukitt

Ergebnis

Zellkerne	rot
Hämosiderin	blau / grün

LösungenKaliumferrocyanid-Lösung

Kaliumferrocyanid	1 g
Aqua dest.	50 ml
Salzsäure 2 %	50 ml

Safranin-Lösung

Safranin O. (C.I. 50240)	0,2 g
Essigsäure 1 %	100 ml

PERIODIC ACID METHENAMINE SILVERC (PAMS) NACH JONES

Bemerkung: Es empfiehlt sich, die Kunststoffschnitte mit Mayers Albumin aufzukleben.

Färbungsverfahren

1. Perjodsäure 1 % 30 Min.
2. Spülen in Aqua dest. 3x
3. Methenamin-Silber-Lösung 60 Min., 60 °C
4. Spülen in Aqua dest., mikroskopische Kontrolle. Zu schwach eingefärbte Schnitte wieder in 3
5. Falls die Schnitte trotz der Vorbehandlung dazu neigen, sich zu lösen, diese dann nach Punkt 4 auf einer Streckplatte bei 60 °C trocknen

6. Goldchlorid 0,2 % 1–2 Min.
7. Spülen in Aqua dest.
8. Natriumthiosulfat 2 % 5 Min.
9. Spülen in Leitungswasser
10. Gegebenfalls kann mit HE oder Safranin O. gegengefärbt werden
11. Entwässern, klären in Xylen und eindecken in Eukitt.

Ergebnis

Basalmembranen	braun / schwarz
----------------	-----------------

LösungenStammlösung Methenaminsilber

- a) Hexamethylentetramin 3 % 100 ml
- b) Silbernitrat 5 % 5 ml
- a) und b) können getrennt aufbewahrt werden.

Farblösung Methenaminsilber

Stammlösung	50 ml
Borax 5 %	5 ml

Perjodsäure: 1 % (Sigma Nr. P 7875)

Goldchlorid: 0,2 %

Natriumthiosulfat-Lösung: 2 % ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

BESTIMMUNG VON ENZYMAKTIVITÄT

Bestimmung von Enzymaktivität in Geweben, die in 2-Hydroxyethyl-Methacrylat (GMA) – insbesondere Technovit 7100 – eingebettet sind

Frisch entnommenes Gewebe wird in 4 % neutralem Formaldehyd bei 4 °C während 2 Stunden fixiert (Immer-sion). Falls Perfusionsfixierungen gemacht werden, können erheblich kürzere Fixierungszeiten eingehalten werden, und die Enzymaktivität bleibt besser erhalten.

Spülflüssigkeit

0,1 M Cacodylatpuffer pH 7,4, hierin kann das Material evtl. über Nacht bei 4 °C aufbewahrt werden.

Entwässerung

1. Alkohol 70 % Aceton 70 %, 30 Min. bei 4 °C
2. Alkohol 96 % Aceton 96 %, 30 Min. bei 4 °C
3. Alkohol 100 % Aceton 100 %, 30 Min. bei 4 °C

Präinfiltration

4. Alkohol 100 % Technovit 7100 1:1, 2 Std. bei 4 °C oder
Aceton 100 % Technovit 7100 1:1, 2 Std. bei 4 °C

Infiltration

Technovit 7100, 12 Std. bei 4 °C

Polymerisation

15 Teile Technovit 7100 (Lösung A)

1 Teil Technovit 7100 Härter II, bei 4 °C

Das Gewebe kann in den Histoformen S oder Q, oder im Sorvall Einbettssystem eingebettet werden. Da die Polymerisation bei 4 °C erfolgt, wird diese langsamer als bei Zimmertemperatur erfolgen. Sicherheitshalber ist eine Polymerisationszeit von 12 Stunden bei 4 °C einzuhalten. Die 2-µ-Schnitte werden auf einem Aqua dest. auch bei Zimmertemperatur getrocknet. Enzymreaktionen können vorgenommen werden, ohne die Kunststoffmatrix zu entfernen.

Bemerkung: Dehydrogenasen nachzuweisen ist problematisch.

ALKALISCHE PHOSPHATASE NACH BURSTONE

Färbungsverfahren

1. Die Kunststoffschritte in das Inkubationsmedium inkubieren 1–3 Std.
Bemerkung: In viele Fällen erweist sich eine Inkubationszeit von 2 Std. als ausreichend.
2. Spülen in Aqua dest. 2 Min.
3. Die Schnitte mit kernechtrot gegenfärben 5–10 Min.
4. Spülen in Aqua dest.
5. An der Luft trocknen
6. Einschließen in Malinol

Ergebnis

Zellkerne rot
Enzymaktivitätsstelle blau

Bemerkung: Bei dieser Reaktion ist die Wahl des Einschlussmittels von großer Wichtigkeit, da Nadelbildung des Reaktionsproduktes auftreten kann.

Lösungen

Pufferlösung

0,2 M Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan 2,4 g
Aqua dest. 100 ml

Den pH-Wert mit verdünnter HCL auf 8,9 einstellen und den Puffer bei 4 °C aufbewahren.

Inkubationsmedium

Naphtol AS-MX Phosphaht, Dinatriumsalz (Sigma) 5 g
N,N-Dimethylformamid 0,25 ml
Nach dem Auflösen anschließend hinzufügen:
Aqua dest. 25 ml
Pufferlösung (pH 8,9) 25 ml
MgSO₄·7H₂O 10 % 2 Tropfen
Fast Blue BB (Sigma) 30 mg

Gut schütteln und anschließend vor dem Gebrauch filtrieren.

Bemerkung: Das Inkubationsmedium stets frisch zubereiten.

ATP-ASE (WACHSTEIN UND MEISEL)

Färbungsverfahren

1. Die Kunststoffschritte in das Inkubationsmedium inkubieren (vor Gebrauch filtrieren) 1–3 Std., 37 °C
Bemerkung: In viele Fällen erweist sich eine Inkubationszeit von 2 Std. als ausreichend.
2. Spülen in Aqua dest. 2 Min.
3. Natriumsulfid-Lösung 30 Sek.
4. Spülen in Aqua dest.
5. Die Schnitte mit kernechtrot gegenfärben 5–10 Min.
6. Spülen in Aqua dest.
7. An der Luft trocknen
8. Mit Eukitt oder Malinol eindecken

Ergebnis

Zellkerne rot
Enzymaktivitätsstelle braun

Lösungen

1. Tris Maleinsäurepuffer pH 7.2 Lösung A.

Maleinsäure 29 g
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan 30,3 g
Aqua dest. 500 ml

2 g Aktivkohle hinzufügen, 10 Min. schütteln und filtrieren. Dann fügt man zu 40 ml der Stammlösung A, 20 ml 1N NaOH hinzu und füllt mit Aqua dest. bis 100 ml auf (pH 7,2).

2. Bleinitratlösung

Bleinitrat 2 g
Aqua dest. 100 ml

3. Magnesiumsulfat-Lösung

MgSO₄·7H₂O 1,2 g
Aqua dest. 100 ml

Inkubationsmedium

Aqua dest. 22 ml
Dinatriumadenosin-5-Triphosphat (Boehringer, Mannheim) 25 mg
Tris-Maleinsäurepuffer pH 7,2 20 ml
Magnesiumsulfatlösung 5 ml
Bleinitratlösung (tropfenweise hinzufügen, auf 42 °C erwärmen und filtrieren) 3 ml

Sulfid-Lösung

Natriumsulfid 2 g
Aqua dest. 100 ml

Den pH-Wert mit 1 N HCL auf 7,0–7,5 einstellen (Kontrolle mit pH-Papier)

Technovit 9100

Routinefärbungen, Immunreaktionen, Enzymhistochemie In-situ-Hybridisierung

Die nachfolgenden Färbungen und Nachweisreaktionen sind nur wichtige exemplarische Beispiele für die Bearbeitung von Hartschnitten. Sie gelten analog für MMA-Dünnschliffe. Reagenzien, Antikörper, Sonden, Detektionssysteme sind variabel.

1. Routinefärbungen

Gegenfärben der Schnitte für Immun- und Enzymhistochemie

- Hämatoxylin n. Mayer fließend 30 Sec./RT
wässern in Leitungswasser überführen 10 Min./RT
in Aqua dest.
- Kernechtrot spülen in Aqua dest. 10 Min./RT
- Methylgrün (gereingt; s. Romeis) 10–20 Min./RT
spülen mit Aqua dest.

HE-Färbung

- Analog zur Färbung von Paraffinschnitten

Giemsa-Färbung

- Schnitte entakrylieren
- Giemsa-Lsg. (frisch ansetzen!) 30–40 Min./RT

Differenzieren und Entwässern

- Aceton / Xylol (95 : 5)
- Aceton / Xylol (70 : 30)
- Aceton / Xylol (30 : 70)
- Xylol

Masson-Goldner-Färbung

- Schnitte entakrylieren
- Haemalaun (Mayer) 10 Min./RT
- Leitungswasser
- Ponceau-Säurefuchsin-Azophloxin 45 Min./RT
- 1%-ige Essigsäure
- Phosphormolybdänsäure / Orange G 7 Min./RT
- 1%-ige Essigsäure
- Lichtgrün 40 Min./RT
- 1%-ige Essigsäure
- aufsteigende Alkoholreihe
- Xylol
- Eindecken mit Eukitt oder Ähnlichem

2. Durchführung der Immunreaktion

Antikörperinkubation

- Spülen in 0,01M Phosphatpuffer (pH 7,4)
- Primärantikörper 16 h/4 °C oder
verdünnt in DAKO Antibody Diluent 30–45 Min./RT
- Spülpuffer
- DAKO EnVision Polymer
(GAM/GAR), AP gekoppelt 30 Min./RT

Nachweisreaktion

- Spülpuffer
- Substrat-Chromogen-Lösung:
Fast Red 15–20 Min./RT
- Gegenfärbung mit Hämatoxylin n. Mayer

3. Durchführung der Enzymhistochemie

Alkalische und saure Phosphatase

- Spülen in 0,1M Tris-Puffer (pH 9,4) 10 Min./RT
- Inkubation in der Reaktionslösung 2 h/37 °C
0,1M Tris-Puffer (pH 9,4)
Echtblau Salz
Naphthol-AS-BI-Phosphat
- Spülen in Aqua dest.
- Spülen in 0,1M Acetat-Puffer (pH 5,6) 10 Min./RT
- Inkubation in der Reaktionslösung 1 h/37 °C
0,1M Acetat-Puffer (pH 5,6)
Hexonium-Pararosanilinlösung
Naphthol-AS-BI-Phosphat
- Spülen in Aqua dest.
- Nachfixieren in 4 % Formalin 2–3 h/RT
- Spülen in Leitungswasser
- Gegenfärbung mit Methylgrün

Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase (ASD)

- Spülen in 0,01M Phosphat-
puffer (pH 7,4) 5 Min./RT
- Inkubation in der Reaktionslösung 1 h/RT
0,1M Phosphatpuffer (pH 6,5)
Naphthol-AS-D-Chloracetat
Hexonium-Pararosanilinlösung
- Spülen in Aqua dest.
- Gegenfärbung mit Hämatoxylin n. Mayer

*RT = Raumtemperatur

Technovit 9100

Kurzgebrauchsanleitung

In-situ-Hybridisierung für Schnitte

1. Anfertigen von ca. 5 µm dicken Schnitten
2. Schnittentplastung bei Raumtemperatur
 - Xylol 2 x 20 Min.
 - 2-Methoxyethylacetat (2-MEA) 1 x 20 Min.
 - Aceton reinst 2 x 5 Min.
 - Aqua dest. 2 x 5 Min.
 Eventuell länger entplasten auch ohne 2-MEA
3. Schnitte umranden
4. Blockieren der endogenen Peroxidase 3%
 - H₂O₂ in Methanol 30 Min.
5. Aqua dest. 2 x 5 Min.
6. Andauung
 - Fast Enzyme 10 Min. bei RT.
 - Pronase 0,1%, 37 °C 10 Min.
7. Aqua dest. mind. 10 Min.
8. frisches Aqua dest. evtl. auch über Nacht
9. Schnitte trocknen lassen
10. Sonde auf die Schnitte auftragen, mit Deckglas verschließen und mit Fixogum abdichten
11. Schnitte in den Hybridizer legen und 2 Stunden bei 55 °C hybridisieren
12. Schnitte aus dem Gerät nehmen, Fixogum ablösen
13. Schnitte in Wasch-Puffer stellen 2 x 2 Min. bei RT

Detektion:

1. AP-anti Biotin auf die Schnitte geben 30 Min., 37 °C
2. In Puffer waschen 2 x 2 Min., RT
3. AP Substrat auf die Schnitte geben 30 Min., 37 °C
4. In Puffer waschen 2 x 2 Min., RT
5. HRP-anti Dig. auf die Schnitte geben 30 Min., 37 °C
6. In Puffer waschen 2 x 2 Min., RT
7. HRP Substrat auf die Schnitte geben 30 Min., 37 °C
 - HRP Substrat aus Kit für Formalin und Kunststoff-fixierte Beckenkämme:
 - HRP Substrat für Schäfer-fixierte Beckenkämme:
 - 10,5 mg 3-Aminoethylcarbazot (Sigma a 5754)
 - 1 ml DMSO
 - in 50 ml Acetatpuffer pH 5,6 (0,1 molar)
 - 5 µl H₂O₂
8. Schnitte unter fließendem Wasser spülen und evtl. kurz mit verdünntem Hämalaun gegenfärben.
9. Wässrig eindecken

HINWEIS:

Weiterführende Angaben zur ISH erfragen Sie bitte bei den entsprechenden Sondenherstellern.

Quelle: Selbstversuch mit Reagenzien der Firma Zytomed Systems GmbH

Reagenzien

Puffer**2M NATRIUMACETAT-STAMMLÖSUNG**

74,13 g Natriumacetat
5,5 ml Eisessig
ad. 500 ml Aqua dest.

0,1M NATRIUMACETAT-PUFFER (pH 5,6)

50 ml 2M Natriumacetat-Stammlösung
ad. 1000 ml Aqua dest. (pH auf 5,6 einstellen)

1M PHOSPHAT-STAMMLÖSUNG

112,5 g Na₂HPO₄
30 g KH₂PO₄
ad. 1000 ml Aqua dest.

0,1M PHOSPHATPUFFER (pH 6,5)

100 ml 1M Phosphat-Stammlösung
ad. 1000 ml Aqua dest. (pH auf 6,5 einstellen)

0,01M PHOSPHATPUFFER (pH 7,4)

10 ml 1M Phosphat-Stammlösung
ad. 1000 ml Aqua dest. (pH auf 7,4 einstellen)

0,04M PHOSPHATPUFFER + 10% SUCROSE (pH 7,4)

40 ml 1M Phosphat-Stammlösung
100 g Sucrose
10 ml 10% NaN₃-Solution
ad. 1000 ml Aqua dest. (pH 7,4)

1M TRIS-STAMMLÖSUNG

121,14 g Tris
ad. 1000 ml Aqua dest.

0,1M TRIS-PUFFER (pH 9,4)

100 ml 1M Tris-Stammlösung
ad. 1000 ml Aqua dest. (pH auf 9,4 einstellen)

Fixierlösungen**Gepufferte 4%-IGE FORMALINLÖSUNG**

100 ml 37%-ges Formol
4 g NaH₂PO₄ · H₂O
6,5 g Na₂HPO₄
ad. 1000 ml Aqua dest. (pH 7,0)

8%-IGE PARAFORMALDEHYD-STAMMLÖSUNG

40 g Paraformaldehyd
ad. 500 ml Aqua dest.

1,4%-IGE PARAFORMALDEHYD-LÖSUNG

35 ml 8% Paraformaldehyd-Stammlösung
 65 ml Aqua dest.
 100 ml 0,04M Phosphatpuffer + 10% Sucrose
 (pH 7,4)

Reaktionsansätze**FAST RED LÖSUNG**

3 ml Substratpuffer in ein Plastikröhrchen geben
 1 Fast Red Tablette in die Lösung geben und lösen
 120 µl Levamisol zugeben und mischen
 Lsg. ca. 1h haltbar

REAKTIONSLÖSUNG: ALKALISCHE PHOSPHATASE

50 ml 0,1M Tris-Puffer (pH 9,4)
 50 mg Echtblau Salz
 25 mg Naphthol-AS-BI-Phosphat (gelöst in
 0,5 ml DMSO/Triton X 100)

REAKTIONSLÖSUNG: SAURE PHOSPHATASE

50 ml 0,1M Natriumacetat-Puffer (pH 5,6)
 500 µl Hexonium-Pararosanilin (250 µl 4 %
 Pararosanilin in 2N HCl + 250 µl 4 %
 Natriumnitrit in Aqua dest.; 1 Min. vortexen,
 5 Min. reagieren lassen)
 25 mg Naphthol-AS-BI-Phosphat (gelöst in 0,5 ml
 DMSO/Triton X 100)

REAKTIONSLÖSUNG: ASD-CHLORACETAT-ESTERASE

50 ml 0,1M Phosphatpuffer (pH 6,5)
 15 mg Naphthol-AS-D-Chloracetat (gelöst in 0,5 ml
 DMSO/TritonX 100)
 250 µl Hexonium-Pararosanilin

Färbelösungen**GIEMSA-LÖSUNG**

3%-ige Lsg. aus der Stammlösung (Merck) herstellen
 1-2 Tropfen 1%-ige Essigsäure

LICHTGRÜN

1 g Lichtgrün gelblich
 2 ml Eisessig
 ad 1000 ml Aqua dest.

PHOSPHORMOLYBDÄNSÄURE / ORANGE-G

30 g Phosphormolybdänsäure
 ad. 500 ml Aqua dest.
 20 g Orange-G
 ad. 500 ml Aqua dest.
 – beide Lösung zusammengeben
 – filtrieren

PONCEAU-SÄUREFUCHSIN-AZOPHLOXIN

100 ml Masson-Lsg.
 20 ml Azophloxinlsg.
 880 ml 0,2%-ige Essigsäure

Masson-Lsg.: 1 Teil Lsg. A + 2 Teile Lsg. B

Lsg. A: 1 g Säurefuchsin (Fuchsin-S)
 ad. 100 ml Aqua dest.
 – kochen
 1 ml Eisessig
 – filtrieren

Lsg. B: 2 g Ponceau de Xylidine
 ad. 200 ml Aqua dest.
 – kochen
 2 ml Eisessig
 – filtrieren

AZOPHLOXINLÖSUNG

0,5 g Azophloxin
 ad. 100 ml Aqua dest.
 2 ml Eisessig

Heraeus Kulzer GmbH

Division Technique

Philipp-Reis-Straße 8/13

61273 Wehrheim

Tel. +49 (0)6081.959-0

Fax +49 (0)6081.959-398

technovit-hkg@heraeus.de

www.technovit.de