

Technovit® 8100

DE Gebrauchsinformation Technovit 8100

Schnitte speziell für die Immunhistochemie

Technovit 8100 ist ein Kunststoffeinbettssystem 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 Polymerisations-system 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 Schrumpfungseffekte, 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.

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 dichtschließende Glas- oder PE-Einmalgefäße (ca. 20 ml) zu verwenden!

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 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
- 1 Beutel, 0,6 g + Technovit 8100 Härter 1

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 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.

Auflocken 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. 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 Kulzer Messerhalter oder einem Hartmetallmesser (Glas-Diamantmesser). Die Blöcke fest im Backenklemmsystem am Mikrotom einspannen. Die Schnitte mit einer Pinzette trocken abnehmen und auf einem Streckbad (Aqua dest.) aufbringen. Direkt auf be-

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

Produktdaten

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

Gefahrenhinweise/Sicherheitsratschläge

Bitte beachten Sie die Hinweise auf den Produktverpackungen und Sicherheitsdatenblättern.
www.kulzer-technik.de

Unsere anwendungstechnische Beratung in Wort, Schrift und durch Versuche erfolgt nach bestem Wissen, gilt jedoch nur als unverbindlicher Hinweis, auch in Bezug auf etwaige Schutzrechte Dritter, und befreit Sie nicht von der eigenen Prüfung der von uns gelieferten Produkte auf ihre Eignung für die beabsichtigten Verfahren und Zwecke. Anwendung, Verwendung und Verarbeitung der Produkte erfolgen außerhalb unserer Kontrollmöglichkeiten und liegen daher ausschließlich in Ihrem Verantwortungsbereich. Selbstverständlich gewährleisten wir die einwandfreie Qualität unserer Produkte nach Maßgabe unserer Allgemeinen Verkaufs- und Lieferbedingungen.

* Detaillierte Informationen über unsere Produkte finden Sie unter www.kulzer-technik.de

® = eingetragenes Warenzeichen, Kulzer GmbH, Hanau

Technovit® 8100

User instruction Technovit 8100

Sections specifically for immunohistochemistry

Technovit 8100 is a HEMA-based plastic-embedding system for studies with light microscopy. It is suitable for embedding all tissues in medicine, zoology and botany. Sections of decalcified or briefly decalcified iliac crest biopsies and implanted biomaterials can be used for more than just histological staining; they can also be used for enzyme chemistry and immunohistochemistry.

Material properties

Technovit 8100 is a combination of a practically odourless plasticizer and a hydrophilic plastic. Technovit 8100 was specifically developed for cold polymerisation (+4 °C).

While hardening the embedding form must be hermetically sealed because the polymerisation system is oxygen-sensitive.

Overview of the benefits

- Reproducibility and reliability of the embedding due to the constant, documented quality controls of the individual components
- Low polymerisation temperature of 10 °C to 0 °C due to the special catalyst system and the Teflon forms
- Uniform hardening of the block, thus uniform and thinnest possible sections
- Low shrinkage artefacts, thus excellent tissue morphology
- Routine staining, enzyme detection and immunohistochemistry possible
- Haemotological iliac crest biopsies do not need to be decalcified
- Low toxicity due to special combination of plasticizer and catalyst system

Application

Prepare Technovit 8100 in accordance with the step-by-step instructions. Place the fixated and dehydrated specimens in the infiltration solution. A low temperature and agitation of the specimens is beneficial during the entire embedding process.

The following instructions for fixation and dehydration are not necessarily required. Technovit can also be infiltrated and polymerised after other pre-treatment.

Airtight glass or PE disposable containers (approx. 20 ml) must be used for the entire process!

Fixation

In order to achieve optimal immunohistochemical results, it is recommended to work at 4 °C throughout the entire embedding process and to aim for short fixation times. Fix the smallest possible pieces of tissue (1 mm thickness) in 2 % paraformaldehyde in phosphate buffer pH 7.4 at 4 °C for 3–4 hours. Subsequently, retreat for 12 hours (overnight) in phosphate buffer pH 7.4 with an additional 6.8 % sucrose at 4 °C.

Dehydration

Dehydrate the tissue in cold acetone 100 % for at least one hour at 4 °C. Change as often as possible in the first minutes until the acetone remains clear.

Infiltration

Making the infiltration solution:

- Technovit 8100 basic solution 100 ml
- 1 bag 0,6 g + Technovit 8100 hardener 1

Dissolve in a clean, detergent-free PE or glass container and then place at 4 °C. When sealed, the infiltration solution is stable for a maximum of four weeks at 4 °C.

Transfer the specimen directly from the acetone to the pre-cooled infiltration solution. The specimens remain therein for 6–10 hours at 4 °C.

Polymerisation

Making the polymerisation solution:

- Infiltration solution, 4 °C 15 ml
- + Technovit 8100 hardener 2, cooled 0,5 ml

Measure with standard pipetting aids and mix well in a PE or glass container. Then, carefully mix the infiltrated specimen in a sealed container for approx. five minutes.

The colour of the polymerisation solution changes first to yellow-green, but after hardening it becomes colourless. Completely fill the Histoform cavities with a disposable pipette, position the tissue therein and immediately cover with transparent PE film. Multiple films can be used for a cavity in order to hermetically seal the cavity. Do not press out bubbles; rather, apply more polymerisation solution and add new film. During polymerisation (at least 3 hours) the embedding form must be placed on a cooling plate or thin layer of ice at 4 °C. Do not let the form or specimens come into contact with moisture.

Blocking and archiving

Remove the film at room temperature with tweezers once hardening is complete. The specimens are blocked with Histobloc® and Technovit® 3040 so that they can be removed from the Teflon mould. Store blocks that are not needed immediately (for immunohistochemistry) at a cool temperature in plastic bags or similar.

Processing

One obtains the best cutting results with a rotation microtome, with the Technovit Histoblade in combination with the Kulzer knife holder or a hard metal knife (glass diamond knife). Tightly clamp the blocks in the totem cam system on the microtome. Dryly remove the sections with forceps and place in a bath (Aqua dest.). Placed directly on a coated object holder and let dry for 2 hours or more at 37 °C. Dry sections that are not needed immediately (for immunohistochemistry) at room temperature at store for a maximum of five days at 4 °C.

Object holder coating

For example, submerge the object holder in a solution of 0.5 % alcian blue (8GXL Sigma) at 65 °C for 15 minutes or liquidly coat the object holder with 0.1 % poly-L-lysine (Sigma). All standard coated object holders may be

used. The sections must dry for at least two hours at 37 °C. Place the non-deplasticized sections directly in the stain solution or start with enzymatic pre-treatment.

It is not possible to elute the plastic before staining or reaction.

Product data

Item No.	64709012
Designation	Technovit 8100 Combipack
Quantity	1 x 500 ml basic solution 5 x 0,6 g hardener 1 1 x 30 g hardener 2 1 x 500 pcs. PE films

Danger/Safety advices

Please follow the instructions on the product packaging and safety data sheets.
www.kulzer-technik.com

Our technical advice, whether verbal, in writing or by way of trials, is given in good faith but without warranty, and this also applies where proprietary rights of third parties are involved. It does not release you from the obligation to test the products supplied by us as and to their suitability for the intended processes and uses. The application, use and processing of the products are beyond our control, and therefore, entirely your own responsibility. Should, in spite of this, liability be established for any damage, it will be limited to the value of the goods delivered by us and used by you. We will, of course, provide consistent quality of our products within the scope of our General Conditions of Sale and Delivery.

* For more information please visit
www.kulzer-technik.com

® = registered trademark, Kulzer GmbH, Hanau

KULZER

MITSUI CHEMICALS GROUP

KULZER GmbH
Leipzigstraße 2
63450 Hanau, Deutschland
Tel. +49 (0) 6181/9689-2574 o. 2571
Fax +49 (0) 6181/9689-2964
technik.wehrheim@kulzer-dental.com
www.kulzer-technik.de