Methode: **Durchlicht-Fluoreszenz mikroskopie**
menschlicher und tierischer Zellen und Gewebe

Literatur: C. REICHERT: Fluoreszenzmikroskopie
mit Fluorochromen. Wien 1963

Anwendungsbereich:

Ausstriche und Mikrotomschnitte.
Erreger- und Sperfilter für die Fluorochrome s. M 10.

Zellkerne

1. Fluorochromieren mit Akridinorange NO, Coriphosphin O, Phosphin 3 R oder Euchrysin 2 GNX

- a) Fluorochromieren 3 Minuten in wässriger Lösung von Akridinorange NO, Coriphosphin O, Phosphin 3 R oder Euchrysin 2 GNX 1:10000.
- b) Waschen.
- c) Zur Herstellung von Dauerpräparaten nachbadern 10 Minuten in verdünntem Formol (4%ig).

Zellkerne gelb.

2. Fluorochromieren mit Berberinsulfat oder Chelidonium-Extrakt

- a) Fluorochromieren 10 Sekunden in wässriger Lösung von Berberinsulfat 1:1000 oder 2 Minuten in unverdünntem Chelidonium-Extrakt.
- b) Waschen.

Zellkerne goldgelb.

3. Fluorochromieren mit Morin

- a) Baden 1 Minute in wässriger Lösung von Aluminiumsulfat (10%ig).
- b) Fluorochromieren in alkoholischer (70 Vol%iger) Lösung von Morin 1:500.
- c) Waschen.
Die beiden Lösungen können auch 1:1 gemischt verwendet werden.

Zellkerne gelbgrün.

HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.

1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 49, 57, 67.

HAITINGER, M.; HAMPERL, A. Die Anwendung des Fluoreszenzmikroskops zur Untersuchung tierischer Gewebe.

Z. Mikroskop. Anatom. Forsch., **33** (1933): 193—221.

HAMPERL, H. Die Fluoreszenzmikroskopie menschlicher Gewebe.

Virchow's Arch. Pathol. Anatom. Physiol. Klin. Med., **292** (1934), 1: 1—51.

— Fluorescence microscopy.

Arch. Pathol. (Chicago), **19** (1935), 6: 838—839.

— Die Methoden der Fluoreszenzmikroskopie.

Mikroskopie (Wien), **2** (1947), 5/6: 152—155.

Leukozyten und Lymphozyten

Fluorochromieren mit Coriphosphin O, Euchrysin 2 GNX oder Thioflavin S

- a) Dünnen Ausstrich auf gut gereinigtem, entfettetem Objektträger herstellen.
- b) Fixieren 10 Minuten in Methylalkohol.
- c) Fluorochromieren 4 Minuten in wässriger Lösung von Coriphosphin O, Euchrysin 2 GNX oder Thioflavin S 1:1000.
- d) Waschen.

Lymphozyten und Leukozyten orange bis gelb.

HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.

1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seite 51.

SCHLOSSHARDT, H.; HEILMEYER, L. Blutzellen im Fluoreszenzlicht.

Jenaische Z. Medizin Naturwiss., 75 (1942), 1: 90—99.

WERTH, G. Fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen an menschlichem Rückenmark.

Acta haematologica (Basel), 10 (1953), 4: 209—222.

WERTH, G.; EISENBRAND, J. Über die Löschung der Fluoreszenz durch einige Hämiproteide.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, 299 (1955): 156—167.

Fett

- a) Fluorochromieren.

Fluorochrom	Konzentration der wässrigen Fluorochromlösung	Dauer der Fluorochromierung in Minuten	Fluoreszenzfarbe
Chelidonium-Extrakt	unverdünnt	3	türkisblau
Chlorophyll-Extrakt	unverdünnt	3	feuerrot
Coriphosphin O	1: 1000	1	gelbgrün
Magdalarot	1: 1000	1	gelb
Neutralrot B extra	1: 2000	2	goldgelb
Phosphin 3 R	1:10000	2	grün
Primulin O	1:10000	10	grün
Thioflavin S	1:10000	10	dunkelblau

- b) Waschen.
- c) Zur Herstellung von Dauerpräparaten nach Verwendung von Coriphosphin O, Magdalarot oder Primulin O nachbadern 10 Minuten in verdünntem Formol (4%ig).
- d) Nach Verwendung von Chlorophyll-Extrakt einbetten nur in Glycerin.

HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.

1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 35, 49, 52, 68

Sonst dieselbe Literatur wie bei „Zellkerne“.

Von manchen Fluorochromen sind verschiedene Sorten im Handel, die von den Herstellern durch Hinzufügen von Kennbuchstaben oder Kennzahlen (z.B. 3 R, GNX usw.) unterschieden werden. Gleichnamige Fluorochrome mit anderen Kennzahlen bzw. -buchstaben haben in aller Regel gleiche Eigenschaften.

Eiweiß

(Bei serösen Entzündungen aus den Kapillaren ausgetretenes Eiweiß = „Serumeiweiß“.)

1. Fluorochromieren mit Euchrysin 2 GNX und Thiazinrot R

- a) Fixieren $1\frac{1}{2}$ bis 12 Stunden in Carnoyschem Gemisch.
- b) Waschen 1 bis 2 Stunden in fließendem Wasser.
- c) In Paraffin einbetten.
- d) Schneiden.
- e) Entparaffinieren.
- f) Fluorochromieren $2\frac{1}{2}$ Minuten in wässriger Lösung von Euchrysin 2 GNX 1:10000.
- g) Waschen 2 Minuten mit Wasser.
- h) Fluorochromieren $\frac{1}{2}$ Minute in wässriger Lösung von Thiazinrot R 1:10000.
- i) Waschen 2 Minuten in Wasser.
- j) Baden 2 Minuten in wässriger Lösung von Aluminiumsulfat, gesättigt.
- k) Waschen 2 Minuten in Wasser.

Kerne gelb bis gelbgrün, Bindegewebe gelbgrün bis blaßrosa, Muskelzellen weißlichblau, ausgetretenes Serumeiweiß braunrot.

2. Fluorochromieren mit Thioflavin S und Euchrysin 2 GNX

- a) bis e) wie oben.
- f) Fluorochromierung $1\frac{1}{2}$ Minuten in wässriger Lösung von Thioflavin S 1:10000.
- g) Waschen in Wasser.
- h) Fluorochromieren $2\frac{1}{2}$ Minuten in wässriger Lösung von Euchrysin 2 GNX 1:10000.
- i) bis k) wie oben.

Kerne, Bindegewebe, Muskelzellen und ausgetretenes Serumeiweiß wie oben, jedoch Farben etwas stärker ausgeprägt.

Herstellung der Fluorochrom-Lösungen

1 : 100	=	1g	
1 : 500	=	0,2 g	
1 : 1000	=	0,1 g	in 100 ml Wasser oder x%igem Äthanol
1 : 5000	=	20 mg	
1 : 10000	=	10 mg	

Wäßrigen Fluorochrom-Lösungen, die nicht für die Vitalfluorochromierung bestimmt sind oder bei einem bestimmten pH-Wert verwendet werden sollen, setzt man zur besseren Haltbarkeit einige Tropfen verflüssigtes Phenol (=Karbolsäure) zu.

3. Fluorochromieren mit Methylgrün OO und Thioflavin S

- a) bis e) wie oben.
- f) Waschen 1 Minute in destilliertem Wasser.
- g) Fluorochromieren 5 Minuten in wässriger Lösung von Methylgrün OO 1:10000, gepuffert p_H 6,0.
- h) Waschen 5 Minuten in destilliertem Wasser.
- i) Fluorochromieren 5 Minuten in wässriger Lösung von Thioflavin S 1:10000, gepuffert p_H 6,0.
- j) Waschen 2 Minuten in destilliertem Wasser.

Serumeiweiß braun, Stützgewebe gelb.

- EPPINGER, H. Über Permeabilitätsänderungen im Kapillarbereiche.
Verhandl. Dtsch. Ges. Kreislaufforschung. 11. Tagung zu Bad Nauheim, 21.—27. 3. 1938 (1938): 166—204.
- Über Ermüdung, Entzündung und Tod.
Z. Klin. Med., 133 (1938): 1—35.
- Die Bedeutung der Fluoreszenzmikroskopie für die Pathologie.
„Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie“ (1. Sonderband der Zeitschrift „Mikroskopie“), 1949, Wien, Georg Fromme 17—22 und 37—45.
- EPPINGER, H.; KAUNITZ, H.; POPPER, H. Die seröse Entzündung, eine Permeabilitäts-Pathologie, X und 298 Seiten.
1935, Wien, Julius Springer.
- HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 49, 51, 76.
- HAITINGER, M.; GEISER, P. Über ein neues Fluorochromierungsverfahren und seine Anwendung. Fluoreszenzmikroskopischer Beitrag zur Eiweiß- und Permeabilitäts-pathologie.
Virchow's Arch. Pathol. Anatom. Physiol. Klin. Med., 312 (1944): 116—137

Amyloid

Fluorochromieren wie Eiweiß

Serumeiweiß braunrot, Paraamyloid blau.

- CHIARI, H. Ein Beitrag zur sekundären Fluoreszenz des sogen. lokalen Amyloids.
Mikroskopie (Wien), 2 (1947), 3, 4: 79—83.
- Sonst die selbe Literatur wie bei „Eiweiß“.

Schleim

Fluorochromieren mit Akridinorange NO, Brillantphosphin G extra, Euchrysin 2 GNX, Aurophosphin G oder Coriphosphin O

- a) Fluorochromieren 5 Minuten in wässriger Lösung von Akridinorange NO, Brillantphosphin G extra, Euchrysin 2 GNX, Aurophosphin G oder Coriphosphin O 1:20000, gepuffert p_H 3,0.
- b) Waschen 5 Minuten in destilliertem Wasser, gepuffert p_H 3,0.
- c) Nachbaden 5 Minuten in verdünntem Formol, gepuffert p_H 3,0.
- d) Entwässern in steigender Alkoholreihe und dann über Xylol in „Afluo!“ einschließen.

Schleim gelbgrün bis kupferrot.

- HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.
1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 53, 67.

"Waschen" bedeutet: So lange unter fließendem Leitungswasser oder dest. Wasser bzw. mit Pufferlösung waschen, bis das Waschwasser in sichtbarem Licht vollkommen farblos erscheint.

Mastzellen

Fluorochromieren wie Schleim

Mastzellen kupferrot.

Markscheiden

Fluorochromieren mit Thioflavin S oder mit Brillantdianilgrün G

- a) Fluorochromieren 10 Minuten in wässriger Lösung von Thioflavin S 1:10000 oder 3 Minuten in wässriger Lösung von Brillantdianilgrün G 1:1000.
- b) Waschen.

Markscheiden blau bis weißlichblau.

HAITINGER, M. Fluoreszenzmikroskopie.

1938, Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. — Seiten 54, 68.

Gehirn und Rückenmark

EXNER, R. Ein Beitrag zur Fluoreszenzmikroskopie des menschlichen Gehirns. (Vorläufige Mitteilung.)

Psychiatr. Neurol. Wschr., 34 (1932), 27: 325.

— Das fluoreszenzmikroskopische Olivenbild.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 35 (1933), 26: 319.

— Zur Fluoreszenzmikroskopie des menschlichen Gehirns.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 36 (1934), 25: 291—292.

— Ein Multiple-Sklerose-Herd im Fluoreszenzmikroskop.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 39 (1937), 26: 283—285.

— Die fluoreszenzmikroskopische Darstellung der Großhirnrinde.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 41 (1939), 22: 255—257.

— Fortschritte in der fluoreszenzmikroskopischen Darstellung der Großhirnrinde.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 42 (1940), 36: 361—365.

EXNER, R.; HAITINGER, M. Zur Fluoreszenzmikroskopie des menschlichen Gehirns.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 38 (1936), 16: 183—187.

EXNER, R.; KLEMPERER, E. Die Fluoreszenz des Liquor cerebrospinalis.

Psychiatr. Neurol. Wschr., 32 (1930), 19: 218.