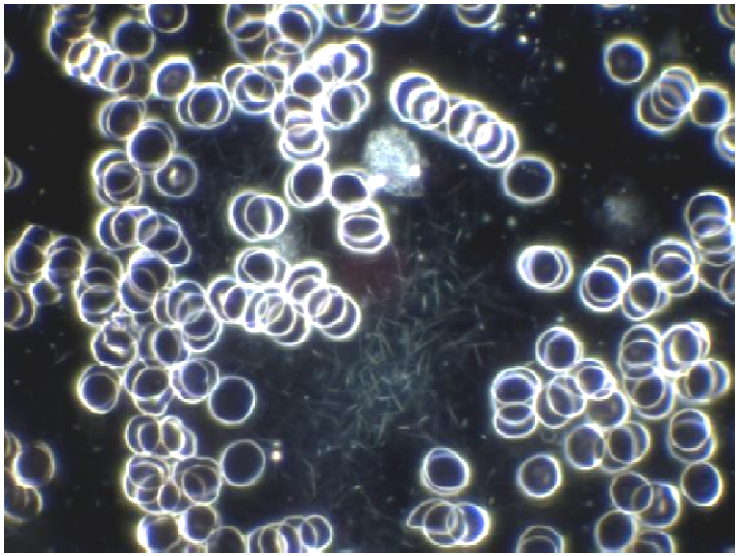
Dunkelfeldmikroskopie



- Geschichtliches
- Das Mikroskop
- Wichtige Parameter
- Kontrastierverfahren
- Das Dunkelfeld

© Helmut Hund GmbH, 2016

μικρός **(mikros): klein**

σκοπεῖν **(skopein): betrachten**

© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **Zacharias Janssen (1588 – 1631):**

  1595: Erstes zusammengesetztes Mikroskop

de.wikipedia.org, gemeinfrei

© Helmut Hund GmbH, 2016

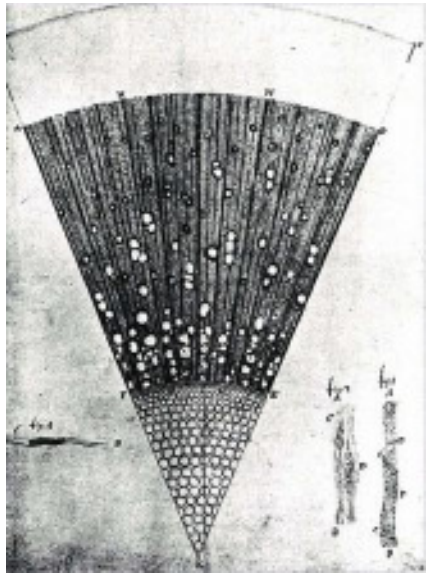
Geschichtliches

- **Antoni van Leeuwenhoek (1632 – 1723):**

  Einzellinsen hoher Qualität, 270-fach,
  Anfärbung von Präparaten

de.wikipedia.org, gemeinfrei

en.wikipedia.org, CC-SA 3.0



de.wikipedia.org, gemeinfrei

© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **Étienne-Louis Malus (1755 – 1812):**

  Arbeiten zur Lichtbrechung und Polarisation

de.wikipedia.org, gemeinfrei

- **George Gabriel Stokes (1819 – 1903):**

  Entdeckung der Fluoreszenz, Arbeiten zur Absorption

de.wikipedia.org, gemeinfrei

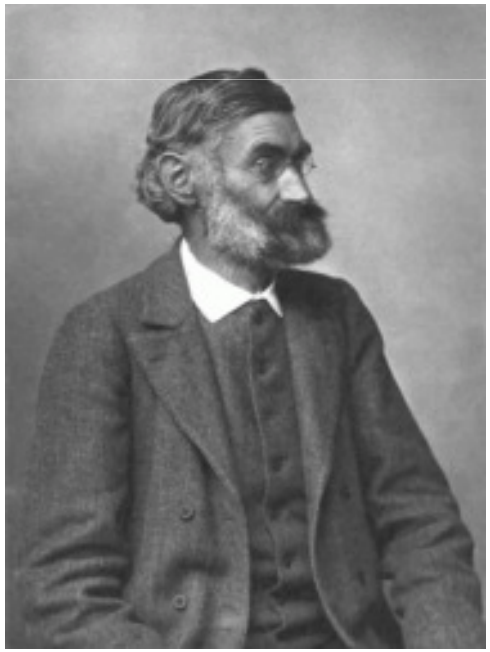
© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **Ernst Abbe (1840 – 1905):**

  1866: Kooperation mit Carl Zeiss,
  1870: Abbildungstheorie

$$\Delta x = \frac{\lambda}{NA_{Objektiv} + NA_{Kondensor}}$$



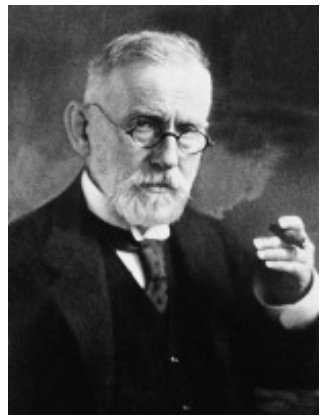
de.wikipedia.org, gemeinfrei

© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **Paul Ehrlich (1845 – 1915):**

  Weiterentwicklung von Färbe-methoden für die Immunologie



de.wikipedia.org, gemeinfrei

- **Hans Christian Gram (1853 – 1938):**

  Gram-Färbung von Bakterien

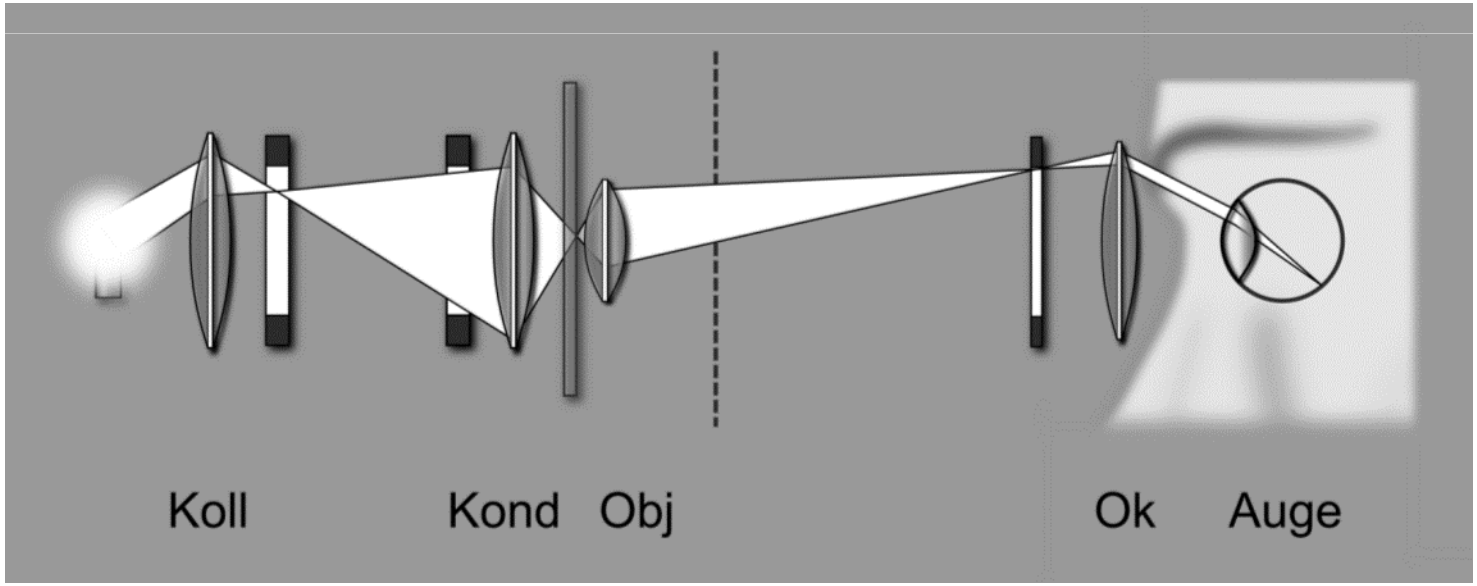
Quelle unbekannt

© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **August Köhler (1866 – 1948):**

  1866: Promotion in Gießen,
  1894: Köhlersche Beleuchtung,
  1900: Start bei Carl Zeiss



© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **Frits Zernike (1888 – 1966):**

  1930: Erfindung Phasenkontrastmikroskop,
  1941: Industrielle Umsetzung (Wehrmacht),
  1953: Nobelpreis für Physik

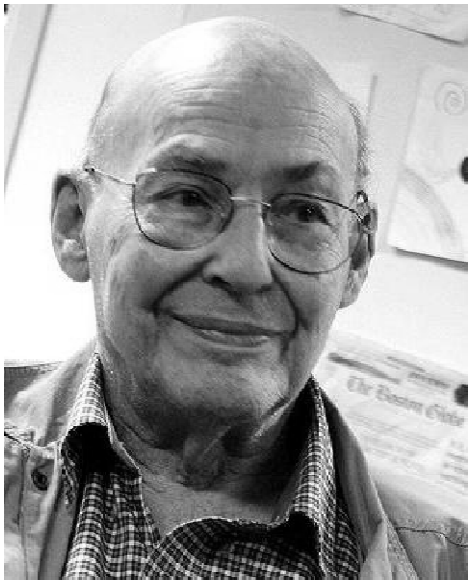
de.wikipedia.org, gemeinfrei

© Helmut Hund GmbH, 2016

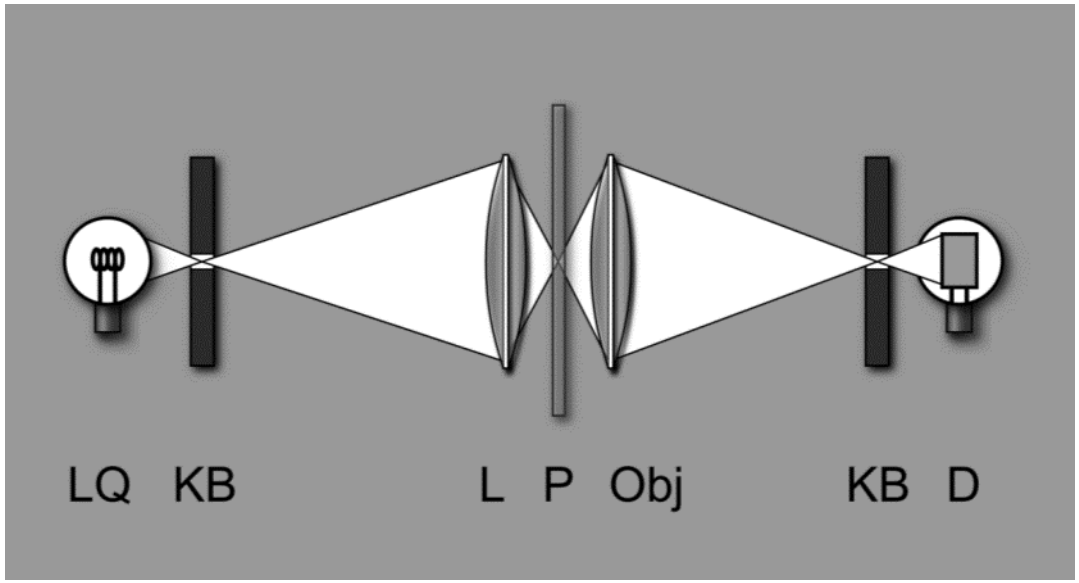
Geschichtliches

- **Marvin Minsky (1927 – 2016):**

  1955: Konfokalmikroskop,
  1956: Begriff „Künstliche Intelligenz“



en.wikipedia.org, CC-A-3.0



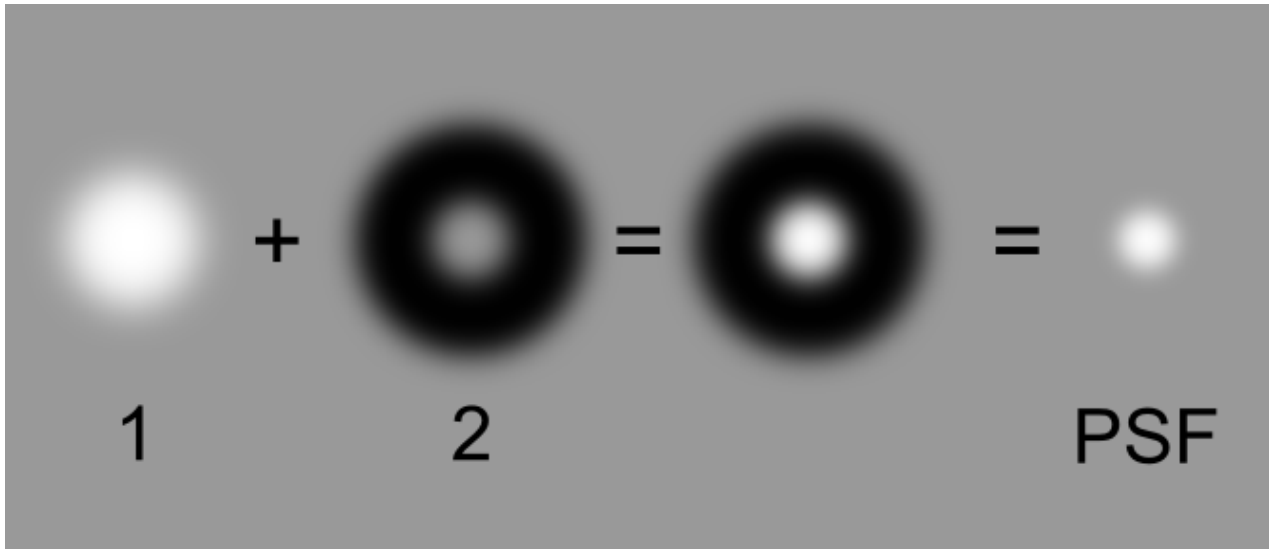
© Helmut Hund GmbH, 2016

Geschichtliches

- **Stefan W. Hell (*1962):**

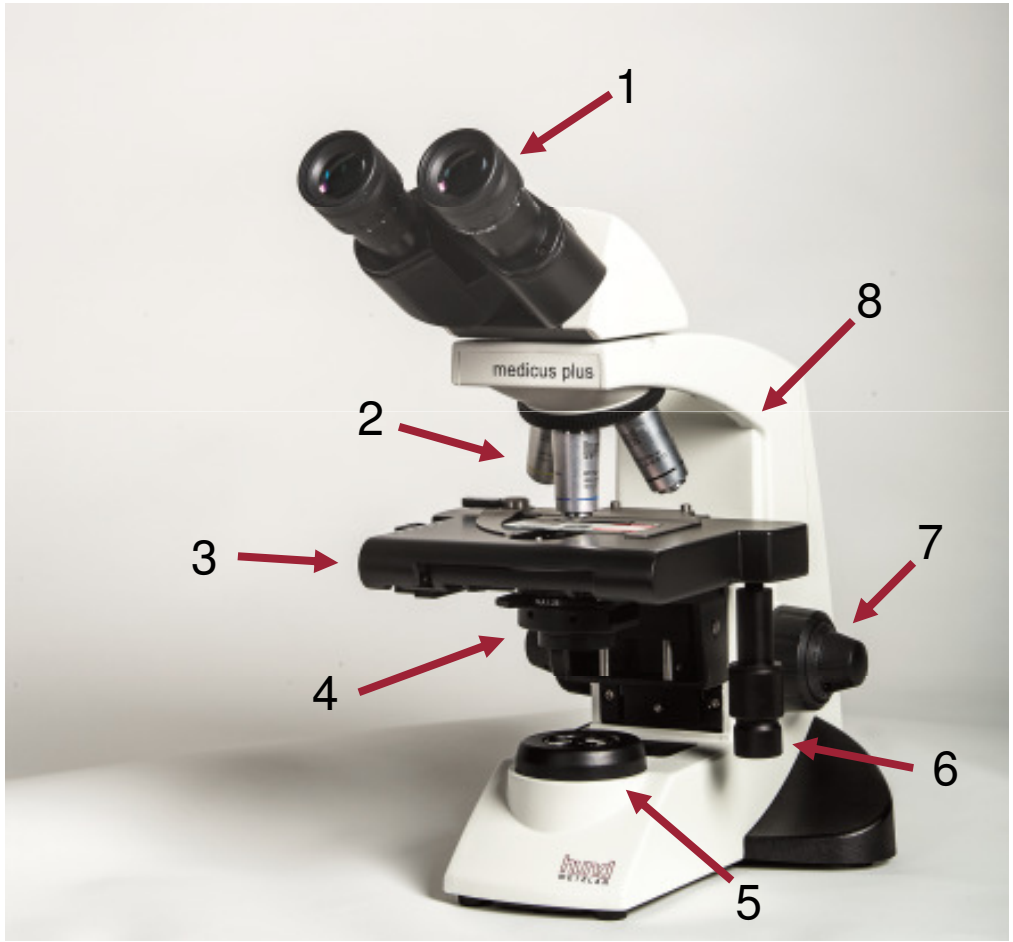
  2000: STED-Mikroskop,
  2001: MPI Biophys. Chemie, Göttingen,
  2014: Nobelpreis für Chemie

de.wikipedia.org, CC-SA-3.0



© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop



1: Okulare und Tubus

2: Objektive und Revolver

3: Kreuztisch

4: Kondensor mit Aperturblende

5: Beleuchtung

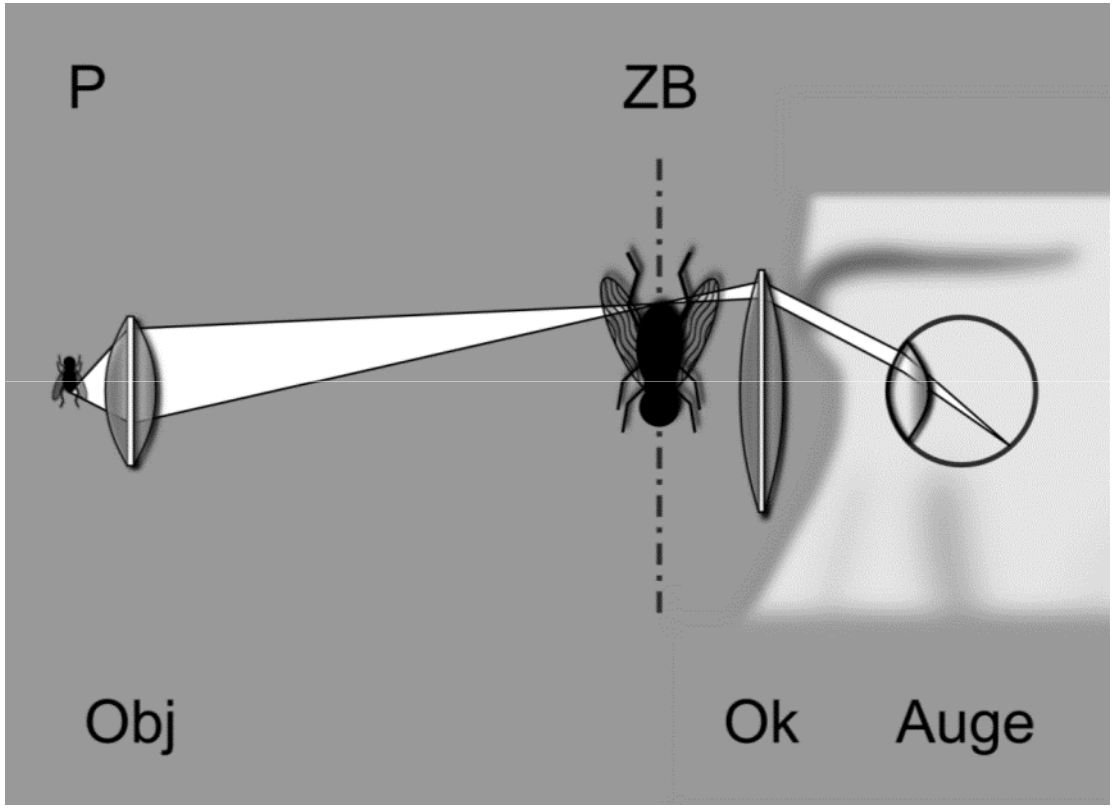
6: Tischtrieb (x/y)

7: Fokussierung (grob/fein)

8: Stativ

© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop



P: Präparat

Obj: Objektiv

ZB: Zwischenbild

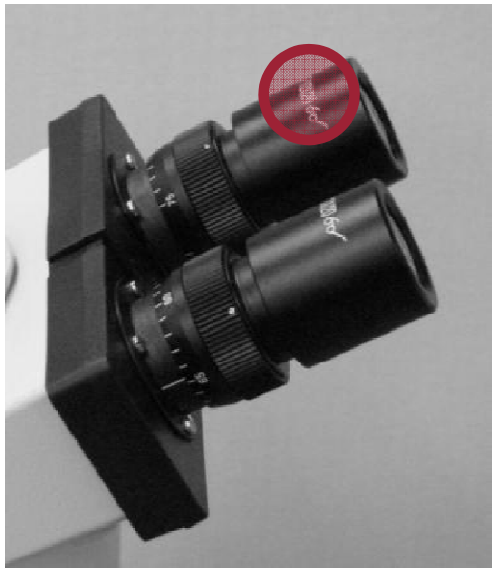
Ok: Okular

© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Gesamtvergrößerung

- Wie groß sehe ich das Objekt?
- Bestimmt durch Objektiv, Okular und evtl. Tubusfaktor

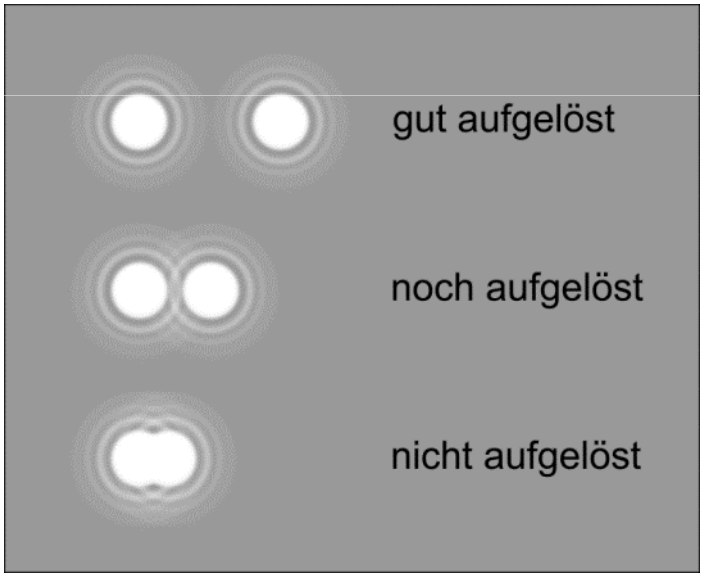
$$M = \text{ } \times \text{  }$$

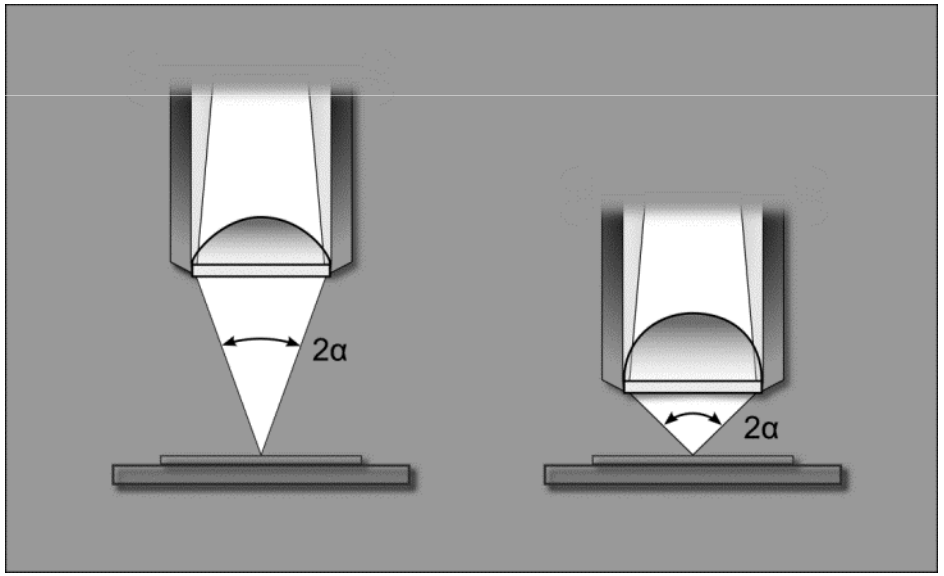
© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Auflösung/Auflösungsvermögen

- Wie viele Einzelheiten kann ich erkennen?
- Wichtig: numerische Aperturen Objektiv und Kondensor





© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Auflösung/Auflösungsvermögen

- Wie viele Einzelheiten kann ich erkennen?
- Wichtig: numerische Aperturen Objektiv und Kondensor

$$\Delta x = \frac{\lambda}{NA_{Objektiv} + NA_{Kondensor}}$$

© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Auflösung/Auflösungsvermögen

Förderliche Vergrößerung des Mikroskops:

$$M_{förderlich} = (500 \ldots 1000) \times NA$$

Für ein Objektiv mit NA 1,25 ist dann:

$$M_{förderlich,\ max} = 1250,$$

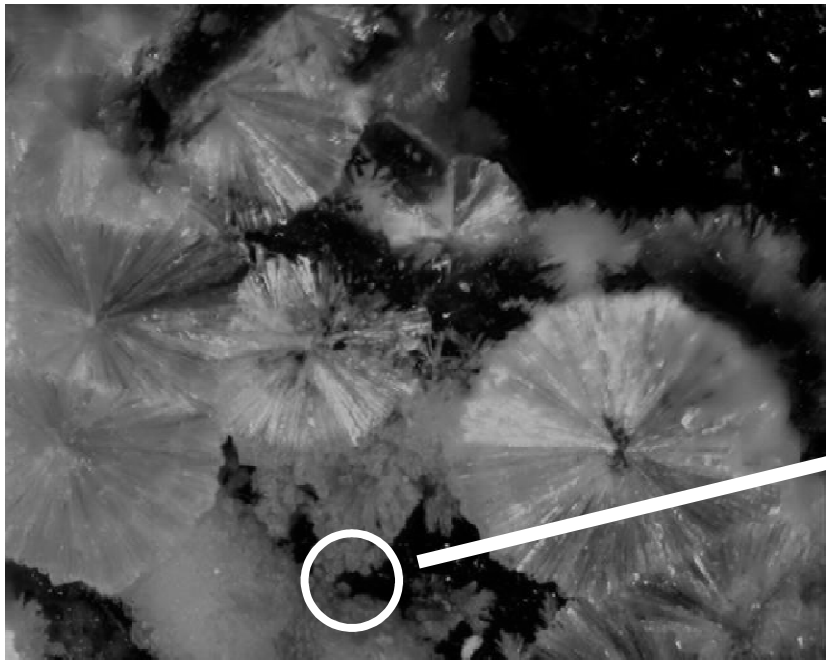
Erreichbar z. B. mit 100:1-Objektiv und 12,5x-Okular(en)

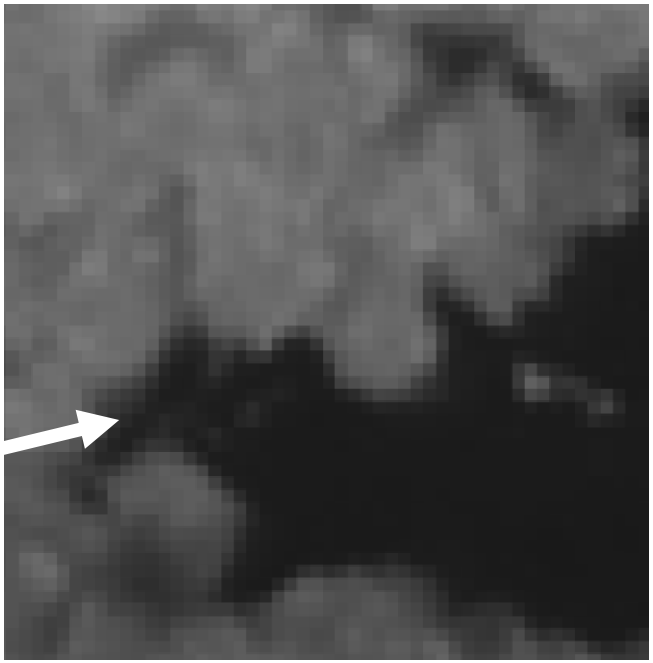
© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Auflösung/Auflösungsvermögen

Jenseits förderlicher Vergrößerung: leere Vergrößerung



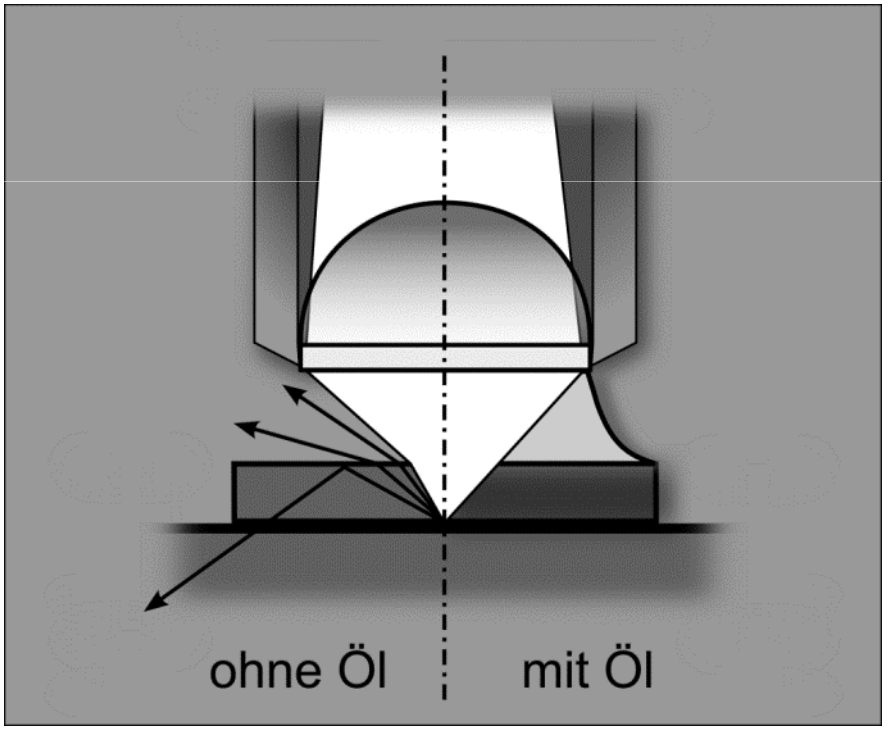


© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Auflösung/Auflösungsvermögen

Für numerische Aperturen >1: Ölimmersion



© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Korrektionsarten: Achromate

Chromatische Aberration:

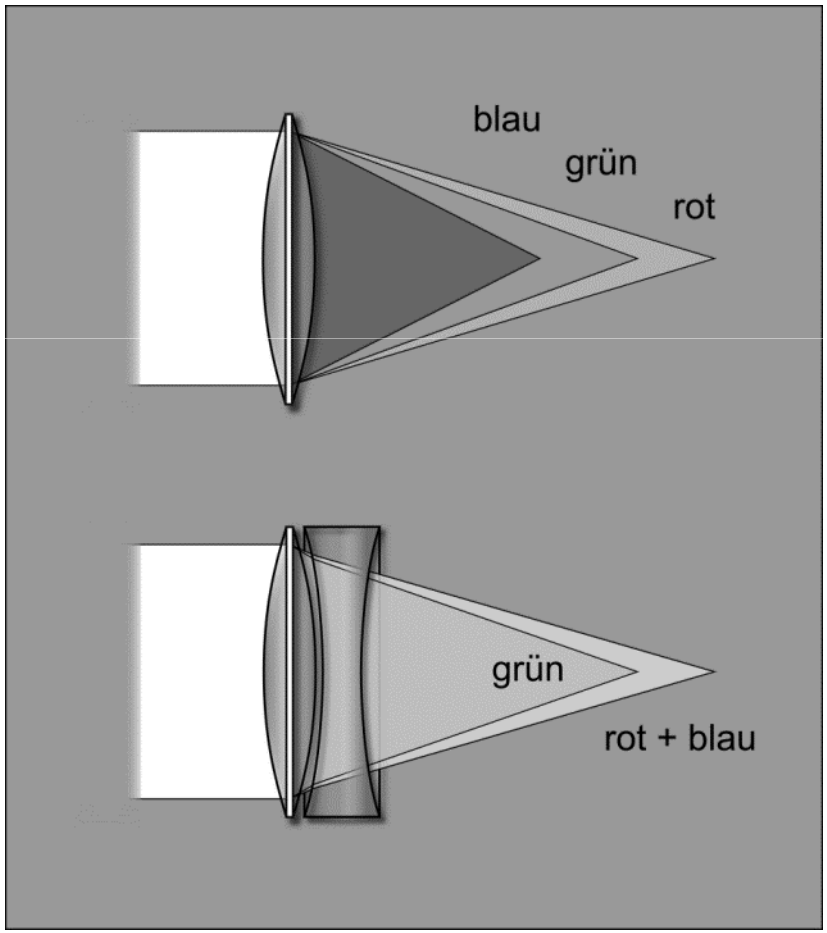
- **Farblängsfehler**
- **Farbquerfehler (CVD)**

de.wikipedia.org, CC-SA-3.0

© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

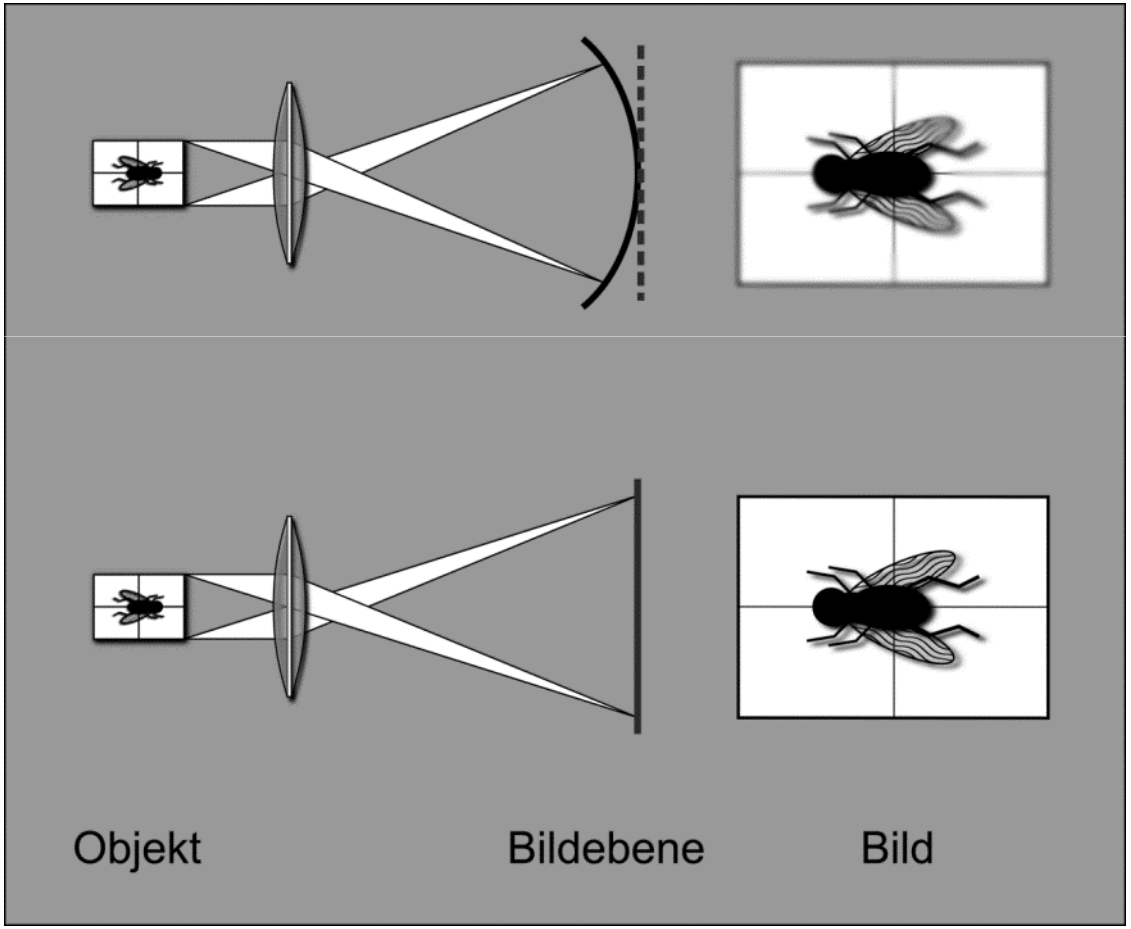
Korrektionsarten: Achromate



© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

Korrektionsarten: Planobjektive zur Bildfeldebnung



© Helmut Hund GmbH, 2016

Das Mikroskop: Wichtige Begriffe

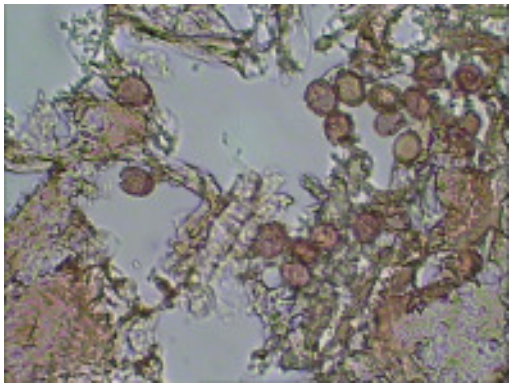
Kontrast

- Wie gut kann ich Details erkennen?
- Es gibt unterschiedliche Kontrastierverfahren

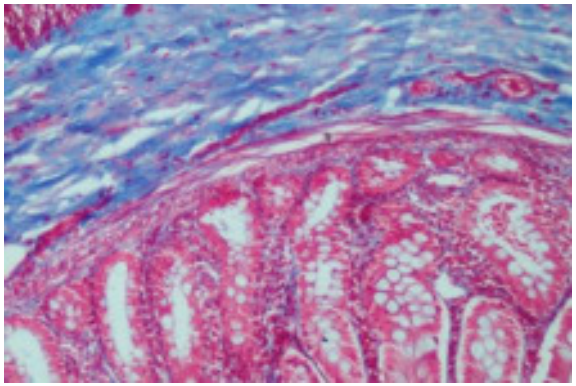
© Helmut Hund GmbH, 2016

Hellfeld (HF)-Mikroskopie

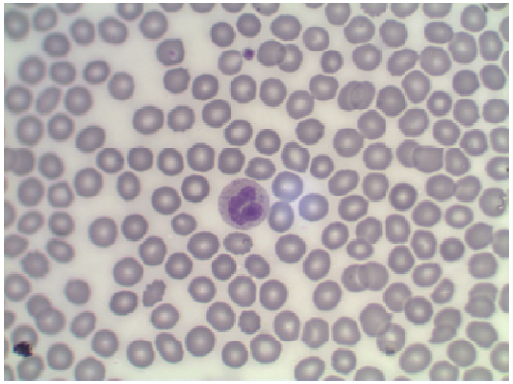
- Kontrastreiche Präparate mit Eigenfarben
- Alternativ: Anfärbung (Nachteil: Zellen †)
- Beispiel: gefärbte Gewebeschnitte und Ausstriche
- Präparat wird durchleuchtet „wie ein Dia“



Speisepilz, Eigenfarbe



Schnitt Duodenum, HE



Blutausstrich, Giemsa

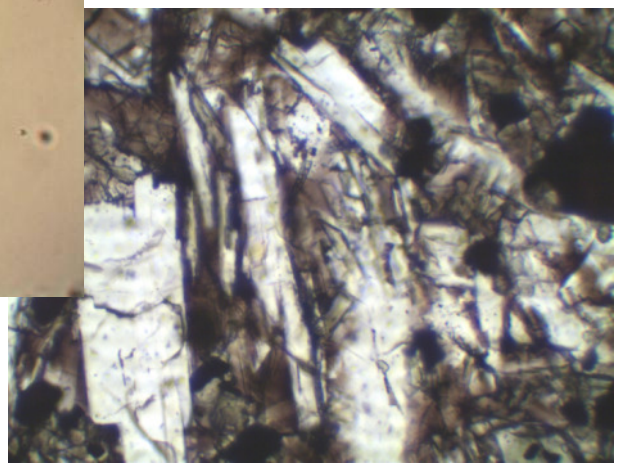
© Helmut Hund GmbH, 2016

Hellfeld (HF)-Mikroskopie

Weitere Beispiele: Eigenfarbe

Kieselalge

Schimmel (Penicillium)

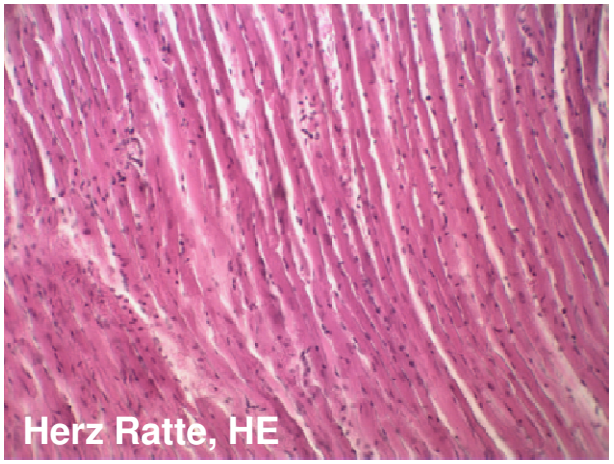


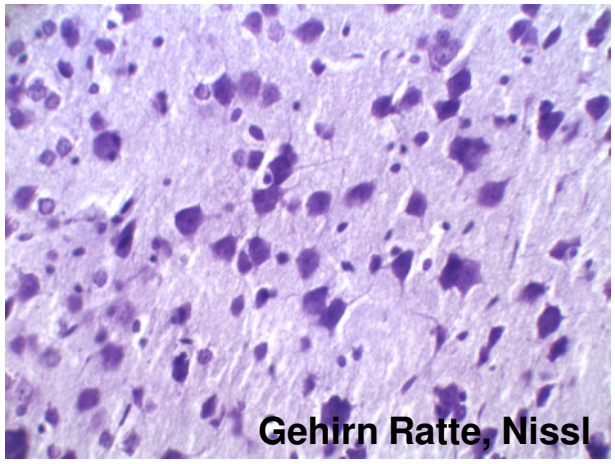
Dünnschliff Basalt

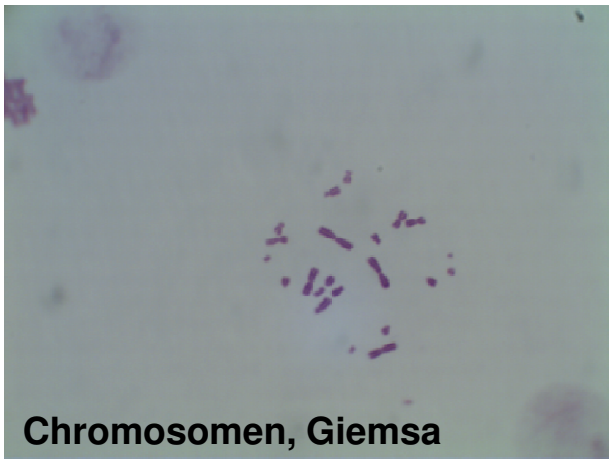
© Helmut Hund GmbH, 2016

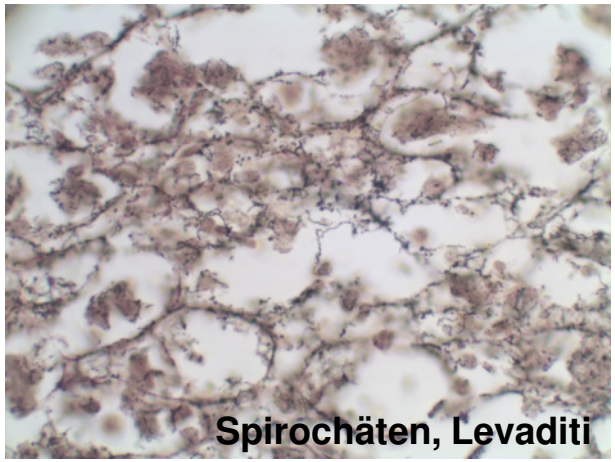
Hellfeld (HF)-Mikroskopie

Weitere Beispiele: Anfärbungen





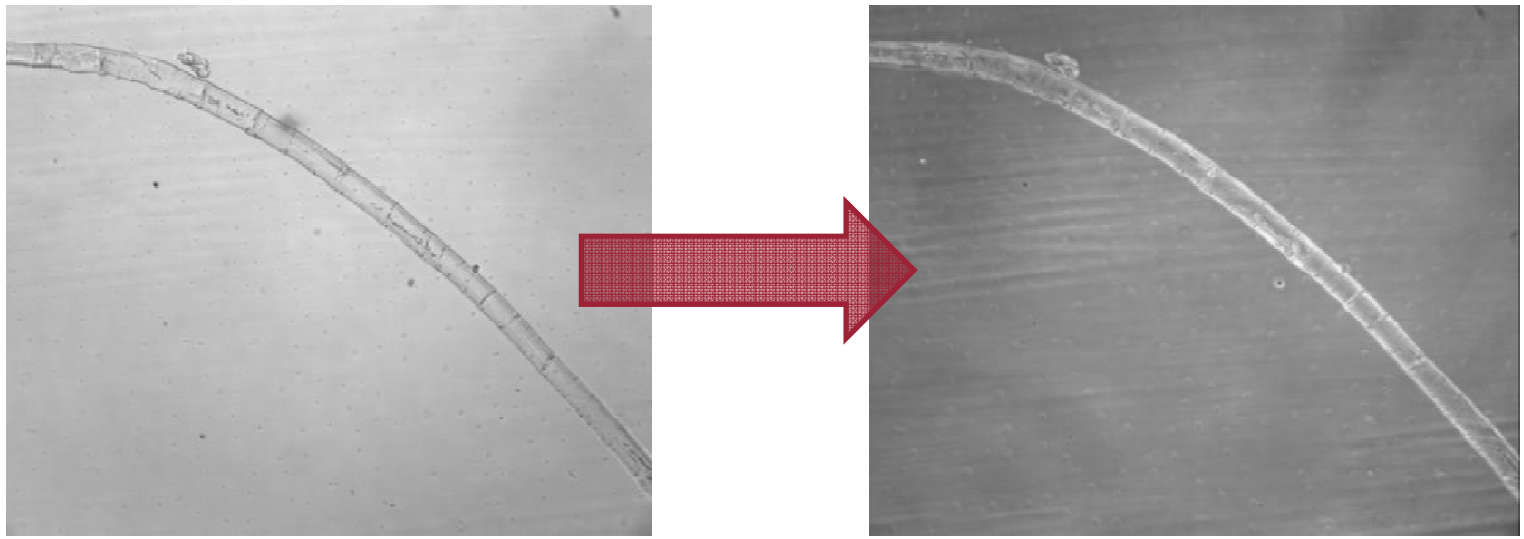




© Helmut Hund GmbH, 2016

Phasenkontrast (PH)-Mikroskopie

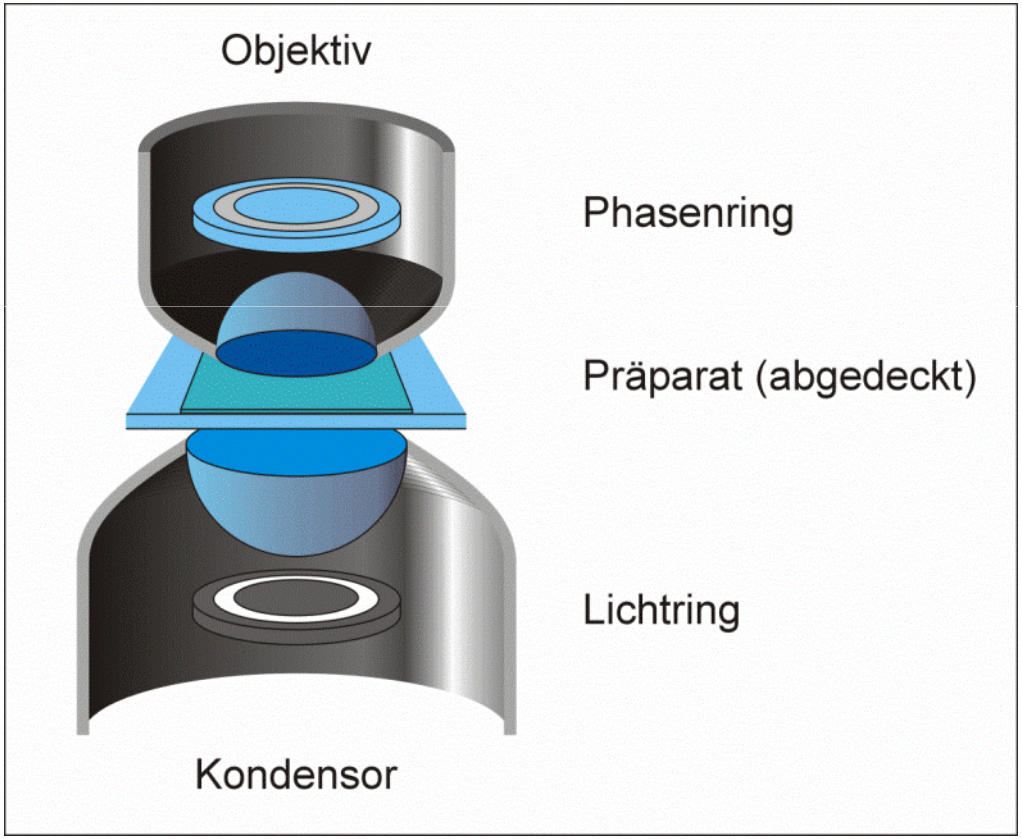
- Kontrastschwache, dünne Präparate
- Anfärbung: nicht möglich/nicht erwünscht
- Beispiel: Untersuchung von Sputum, Harnsediment
- HF-Mikroskop mit speziellen Objektiven/Ringblenden

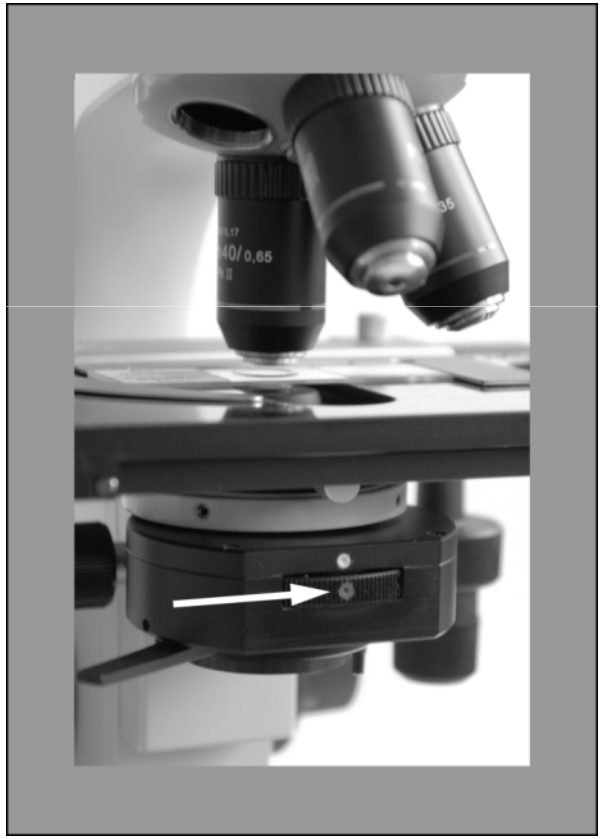


© Helmut Hund GmbH, 2016

Phasenkontrast (PH)-Mikroskopie

Für **jedes** Phasenobjektiv **ein** Lichtring!

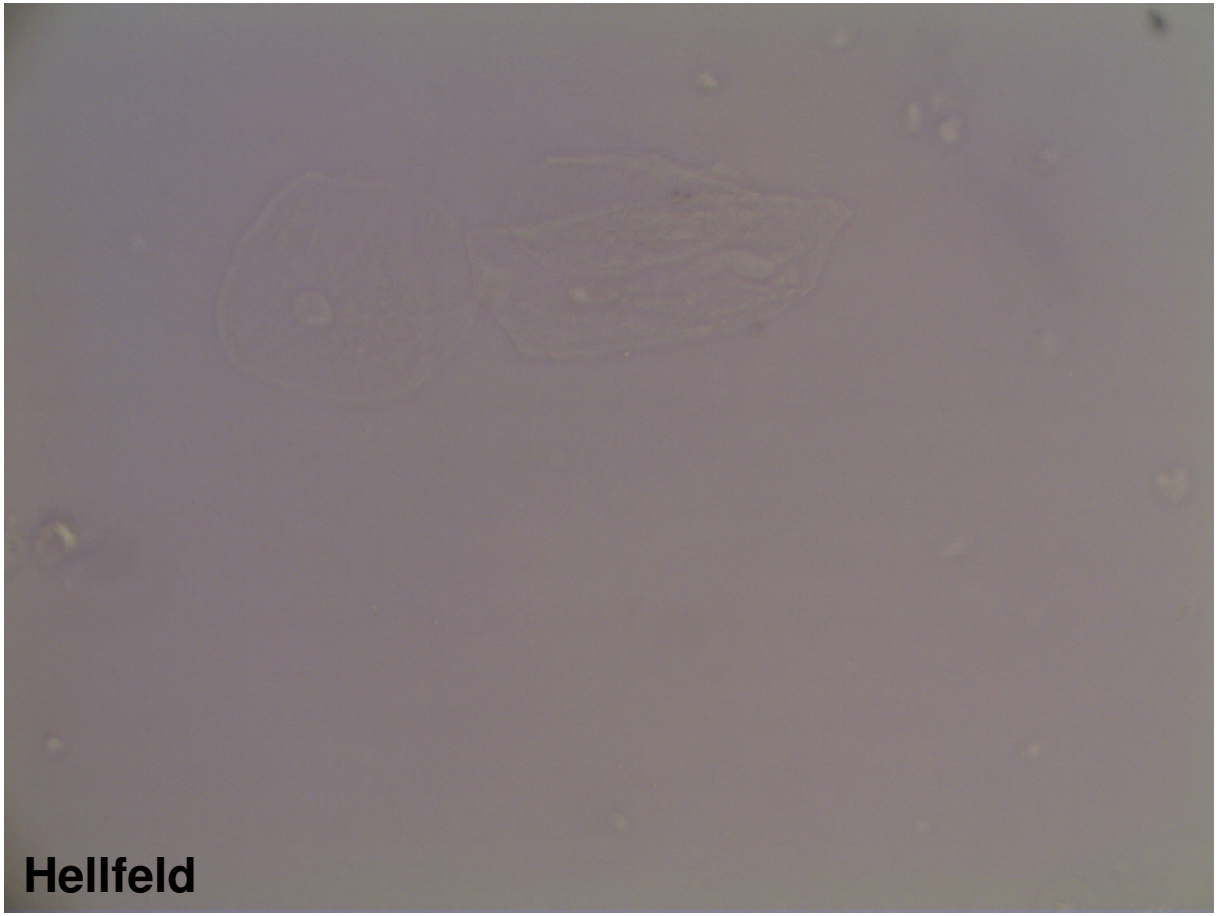




© Helmut Hund GmbH, 2016

Phasenkontrast (PH)-Mikroskopie

Weitere Beispiele: Schleimhaut-Epithelzellen



© Helmut Hund GmbH, 2016

Phasenkontrast (PH)-Mikroskopie

Weitere Beispiele: Schleimhaut-Epithelzellen

Hellfeld, Aperturblende geschlossen

© Helmut Hund GmbH, 2016

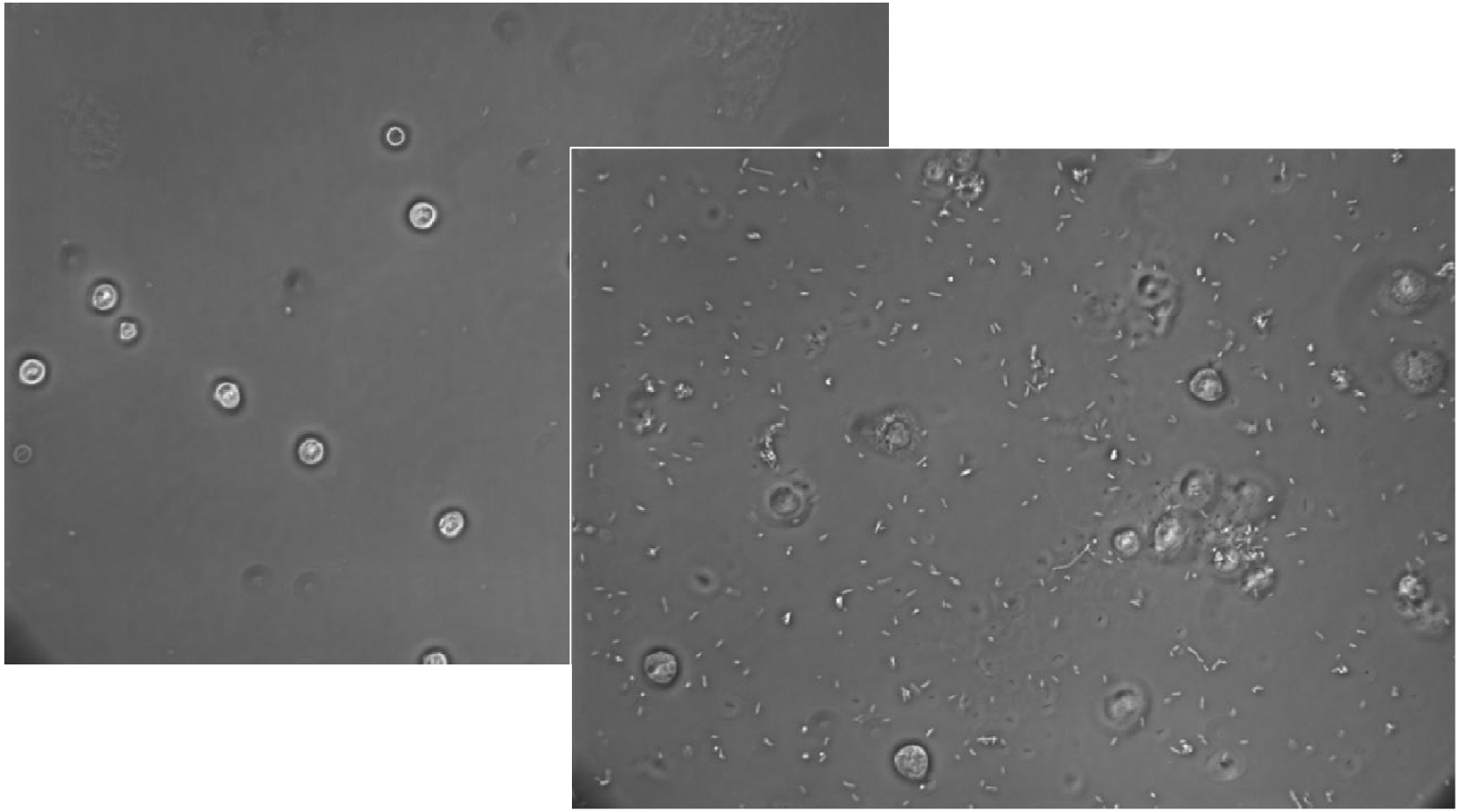
Phasenkontrast (PH)-Mikroskopie

Weitere Beispiele: Schleimhaut-Epithelzellen

© Helmut Hund GmbH, 2016

Phasenkontrast (PH)-Mikroskopie

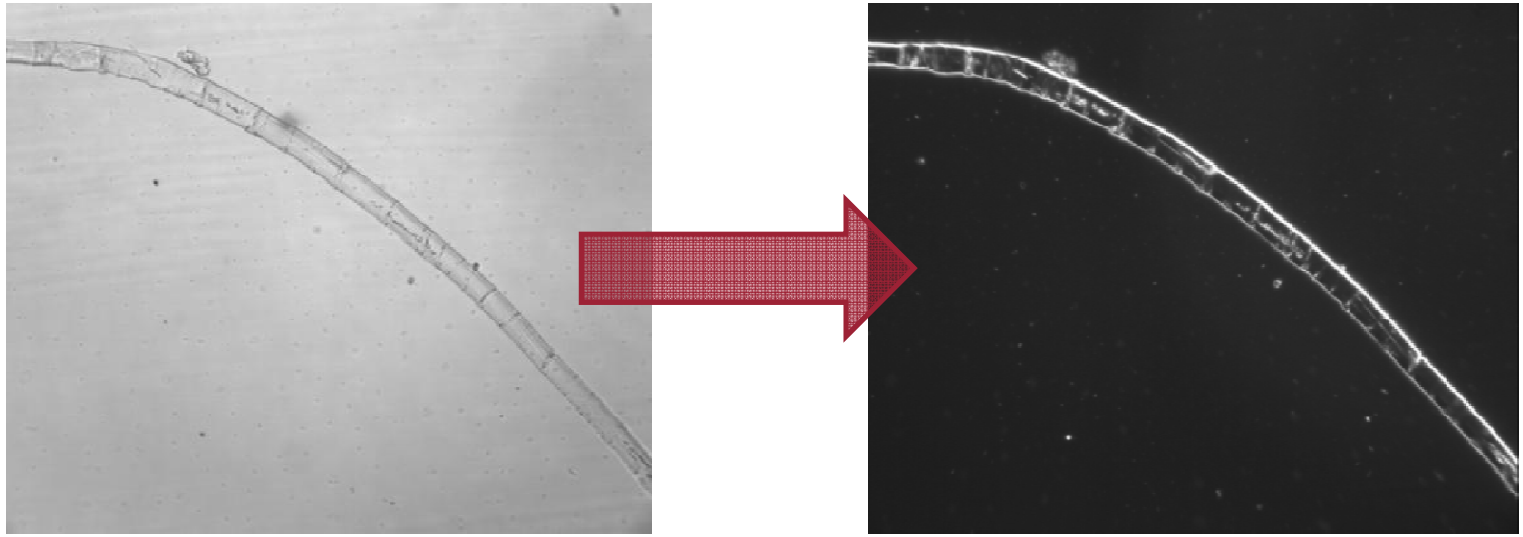
Weitere Beispiele: Harnsediment



© Helmut Hund GmbH, 2016

Dunkelfeld (DF)-Mikroskopie

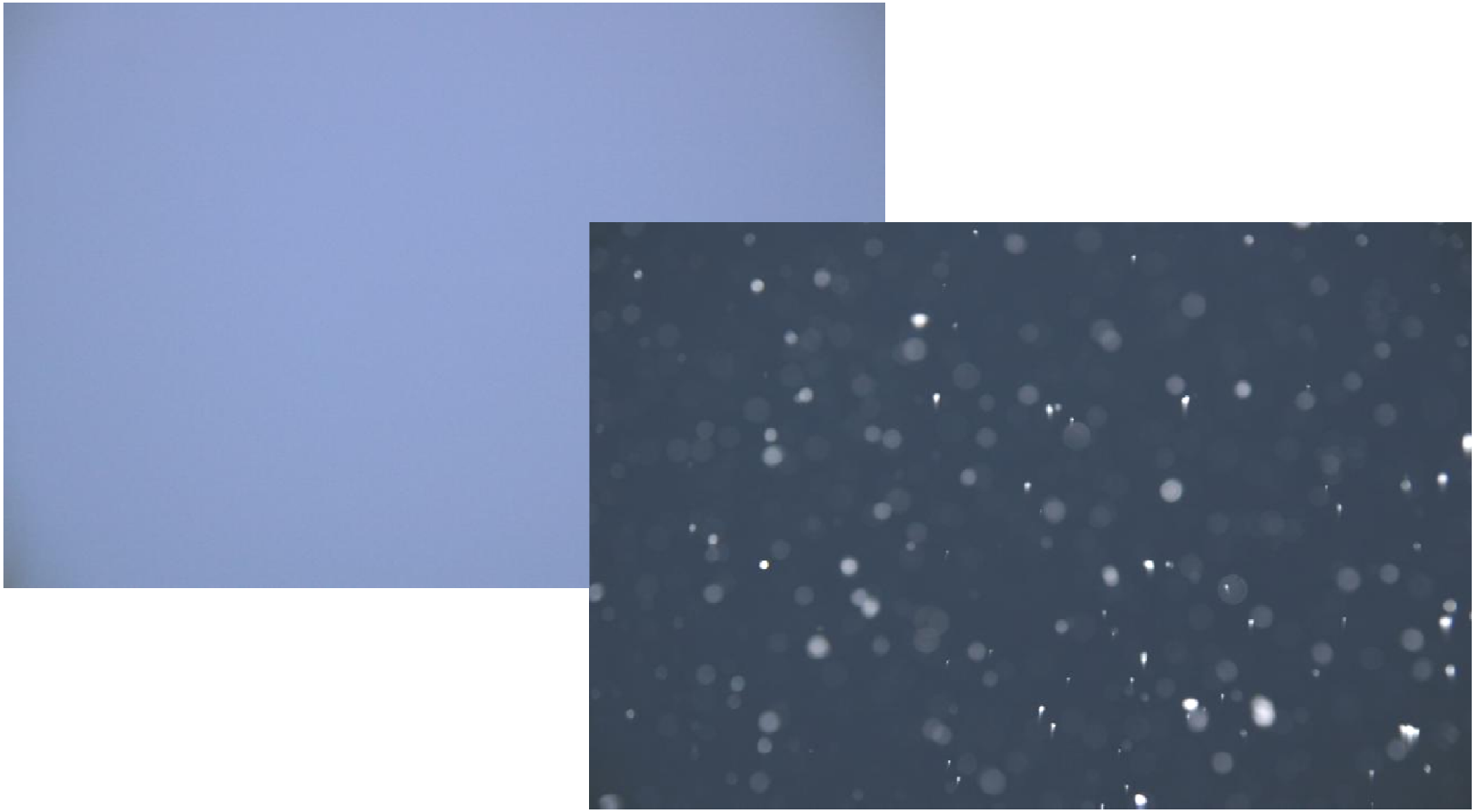
- Kontrastschwache Präparate
- Anfärbung: nicht möglich/nicht erwünscht
- Beispiel: Untersuchung auf Spirochäten
- HF-Mikroskop mit spezieller Ringblende



© Helmut Hund GmbH, 2016

Dunkelfeld (DF)-Mikroskopie

Dunkelfeldbeleuchtung auch im Alltag beobachtbar:



© Helmut Hund GmbH, 2016

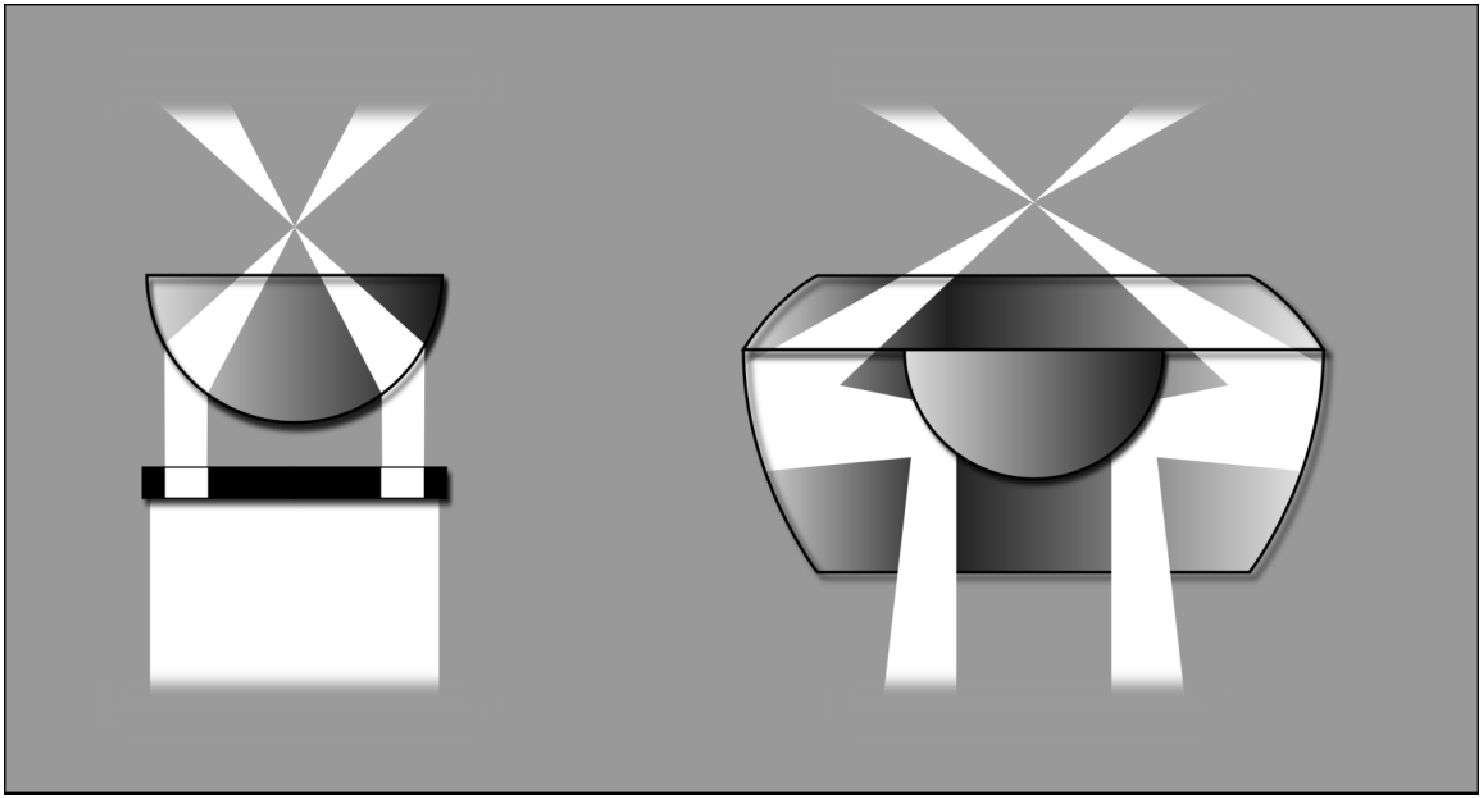
Dunkelfeld (DF)-Mikroskopie

Dunkelfeldbeleuchtung auch im Alltag beobachtbar:

© Helmut Hund GmbH, 2016

Dunkelfeld (DF)-Mikroskopie

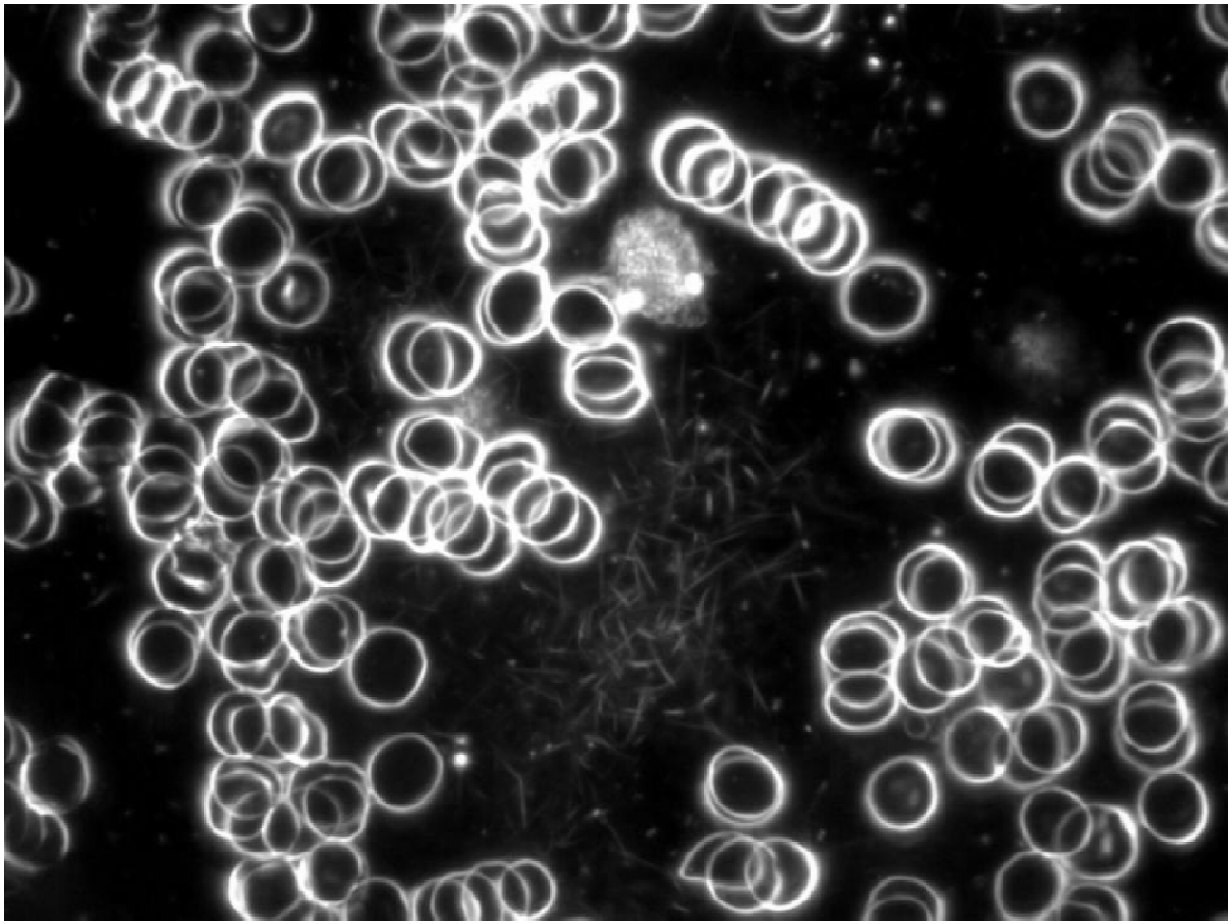
Beleuchtung mit **hohlem** Lichtkegel



© Helmut Hund GmbH, 2016

Dunkelfeld (DF)-Mikroskopie

Beispiel: Nativblut (1000x, spezielles Objektiv mit Iris)



© Helmut Hund GmbH, 2016

H 600 LL HP 100

- Stabiles, universell erweiterbares Mikroskopstativ
- Revolver für bis zu 5 Objektive
- Kardioid-Kondensor NA 1,4
- Objektiv SPL 100/1,25-0,60 Oel
- 100 W-Halogen-Beleuchtung mit Lichtleiter (Kaltlichtquelle)
- Graukeil für Farbtemperatur-neutrale Helligkeitsregelung
- Vielfältiges Zubehör

© Helmut Hund GmbH, 2016

H 600 LL HP 100

- Stabiles, universell erweiterbares Mikroskopstativ
- Revolver für bis zu 5 Objektive
- Kardioid-Kondensor NA 1,4
- Objektiv SPL 100/1,25-0,60 Oel
- 3 W-Weißlicht-LED-Beleuchtung (Kaltlichtquelle)
- Farbtemperatur-neutrale Helligkeitsregelung
- Vielfältiges Zubehör

© Helmut Hund GmbH, 2016

Kameras für die Mikroskopie

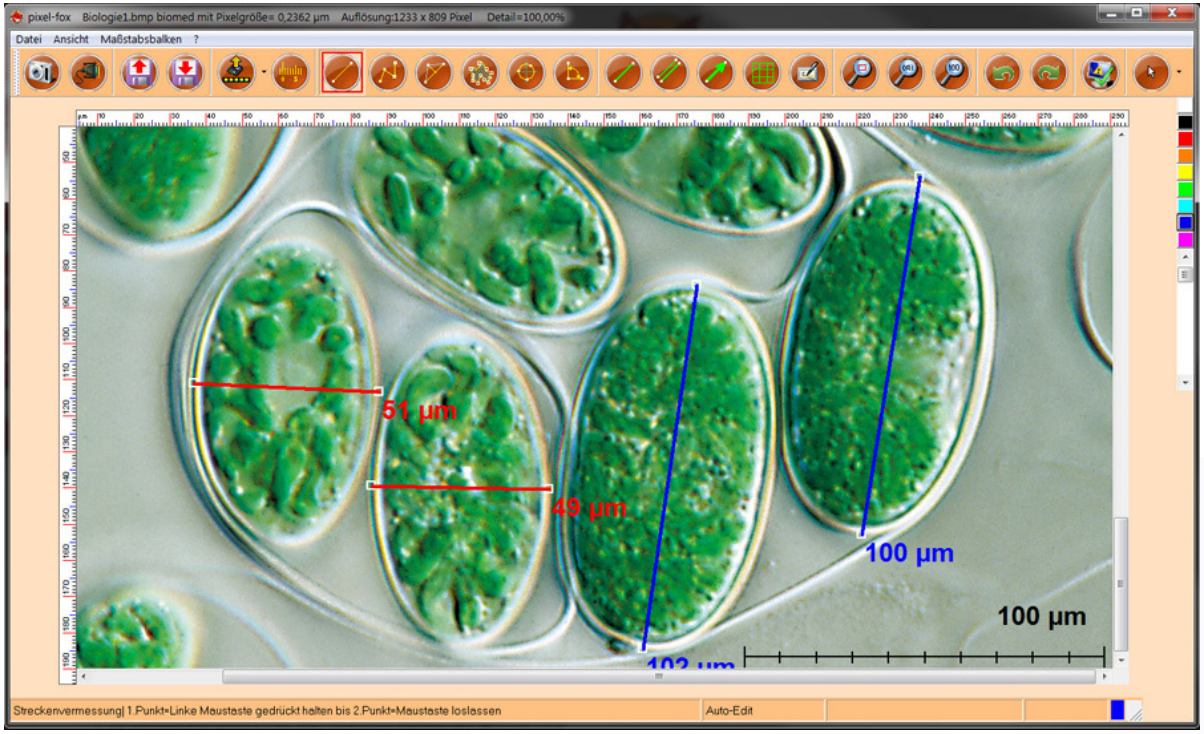
	UI-1240LE-C	UI-1460LE-C	UI-3580SE-C	Kappa Juno2
Chipgröße	1/2“	1/2"	1/2“	1/2,5“
Sensortyp	CMOS	CMOS	CMOS	CMOS
Auflösung	1280 x 1024 (1,3 MPix)	2048 x 1536 (3,1 MPix)	2560 x 1920 (5,2 MPix)	2560 x 1920 (5,2 MPix)
Bildwiederholrate [fps]	25,8	11	12	30
Farbtiefe [Bit]	8	8	12	24
Schnittstelle	USB 2.0	USB 2.0	USB 3.0	HDMI, LAN
Software		uEye Cockpit		--
C-Mount-Adapter	0,5x	0,5x	0,5x	0,5x
Windows-Version		7, 8.1		--

© Helmut Hund GmbH, 2016

uEye: Software zur Bildaufnahme

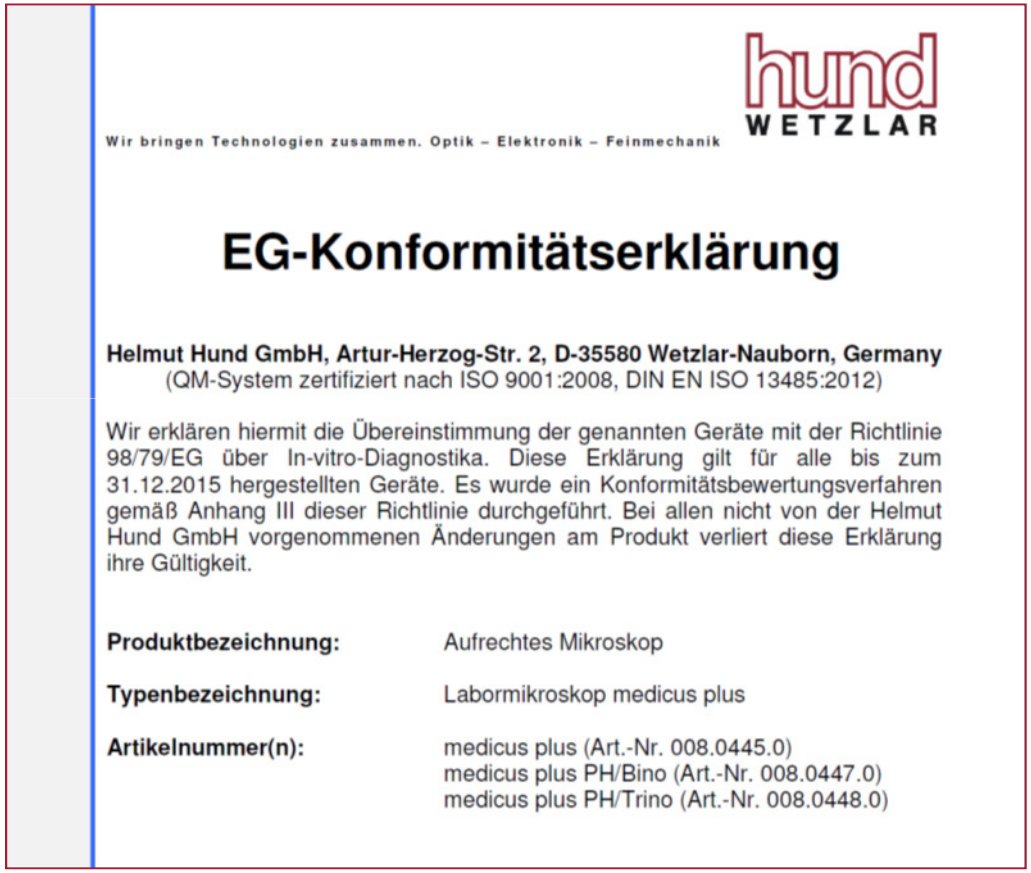
© Helmut Hund GmbH, 2016

pixel-fox: System zur Vermessung



© Helmut Hund GmbH, 2016

Mikroskope als Medizinprodukte



Wir bringen Technologien zusammen. Optik – Elektronik – Feinmechanik

EG-Konformitätserklärung

Helmut Hund GmbH, Artur-Herzog-Str. 2, D-35580 Wetzlar-Nauborn, Germany
(QM-System zertifiziert nach ISO 9001:2008, DIN EN ISO 13485:2012)

Wir erklären hiermit die Übereinstimmung der genannten Geräte mit der Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika. Diese Erklärung gilt für alle bis zum 31.12.2015 hergestellten Geräte. Es wurde ein Konformitätsbewertungsverfahren gemäß Anhang III dieser Richtlinie durchgeführt. Bei allen nicht von der Helmut Hund GmbH vorgenommenen Änderungen am Produkt verliert diese Erklärung ihre Gültigkeit.

Produktbezeichnung:	Aufrechtes Mikroskop
Typenbezeichnung:	Labormikroskop medicus plus
Artikelnummer(n):	medicus plus (Art.-Nr. 008.0445.0) medicus plus PH/Bino (Art.-Nr. 008.0447.0) medicus plus PH/Trino (Art.-Nr. 008.0448.0)

- Mikroskope zu Diagnosezwecken und für menschliche Proben sind **In-Vitro-Diagnostika**
- Hund-Mikroskope werden entsprechend dokumentiert
- Für alle Modelle liegen Konformitätserklärungen gemäß IVD-Richtlinie vor, sind auf Anfrage erhältlich

© Helmut Hund GmbH, 2016

Ansprechpartner

Daniela Jobst
Sales Manager Instrumente
Tel. 06441 2004-60
d.jobst@hund.de

Dr. Jörg Haus
Produktmanager Instrumente
Tel. 06441 2004-28
j.haus@hund.de

Petra Hertstein-Hecker
Vertriebslogistik
Tel. 06441 2004-26
p.hertstein-hecker@hund.de

Michael Wagner
Service Mikroskope
Tel. 06441 2004-51
m.wagner@hund.de

Webseite: www.hund.de

© Helmut Hund GmbH, 2016