

Tabulka pro sjednocení hodnocení intenzity fluorescence u metod využívajících fluorescenční mikroskop

Autor: RNDr. Marcela Drahošová
ÚKIA FN, Hradec Králové, e-mail: drahosova@fnhk.cz

Intenzitu fluorescence významně ovlivňuje kvalita světelného zdroje. Mikroskop by měl být vybaven 100 W rtuťovou výbojkou (životnost 150-200 hodin - po uplynutí této doby sice ještě svítí, ale světelné charakteristiky mohou být změněny.) U 50 W výbojek je většinou výtěžnost fluorescence nižší.

Kontinuální standardizaci IF diagnostiky je nutné zabezpečit kalibrací mikroskopu. Kalibraci provádíme pomocí značených FITC částic nebo pomocí sér o známém titru. Kalibrační částice dodává firma Biomedica (Immunoconcepts), séra s deklarovaným titrem je možnou objednat např. u firmy Dynex (Euroimmun).

I přes všechna opatření zůstává hodnocení preparátu zatíženo subjektivním faktorem. Ke sjednocení slouží následující tabulka, podle které lze intenzitu fluorescence hodnotit v 5 kategoriích.

Doporučená kritéria pro kvalitativní hodnocení IF

| <i>Obraz</i> | <i>Hodnocení</i> |
|---|-------------------------|
| Není pozorována žádná fluorescence/linie očekávaných struktur | negativní |
| Nezřetelná, ale patrná fluorescence/linie očekávaných struktur | hraniční |
| Zřetelná, ale slabá fluorescence/linie očekávaných struktur | slabě pozitivní |
| Zřetelná, jasná fluorescence/linie očekávaných struktur | pozitivní |
| Velmi silná fluorescence, která může způsobit i splývání struktur | silně pozitivní |

(závěry z pracovního semináře, Piešťany 1998)

Seznam zkratk

| | |
|------|----------------------------|
| IF | Imunofluorescence |
| FITC | Fluoresceinisothiokyanát |
| IIF | Indirect Imunofluorescence |