

VYUŽITÍ AUTOFLUORESCENCE V MAKROFOTOGRAFII

V. Mašín

Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Úvod

Zobrazování a snímání obrazů s využitím fluorescenčních barviv (jak v mikroskopii, tak i v makroskopickém měřtku) je běžnou součástí mnoha odvětví (nejen) medicínského výzkumu. Autofluorescence byla naproti tomu obvykle považována za nežádoucí komplikaci, snižující kvalitu obrazu vytvářením nespecifického signálu na pozadí. Teprve moderní optická a zobrazovací technika umožňuje její smysluplné využití.

Materiál a metody

Při ověřování schopnosti současné techniky zaznamenat použitelné autofluorescenční makrosnímky jsme využili nasvícení pomocí xenonových výbojek Canon 199A (Canon, Tokyo, Japonsko), opatřených pásmovými filtry MidOpt BP365 a Bi350 (Midwest Optical Systems Inc., Palatine, USA); resp. 3W 365nm UV-A LED diod Nitecore CU6 (Nitecore, Guangdong, ČLR) opatřených pásmovými filtry MidOpt BP340. Pro vlastní snímání jsme použili Nikon D5 s makroobjektivem Nikon 105mm f/2.8 G IF-ED AF-S VR MICRO, doplněným UV filtrem Nikon NC (Nikon, Tokyo, Japonsko).

Výsledky

Praktické testy sestavy ukázaly, že širokopásmové filtry jako BP365 mají příliš vysokou propustnost ve viditelném spektru¹, takže pro snímání velmi slabé autofluorescence nejsou použitelné. Modernější interferenční filtry Bi350 propouštějí výrazně užší pásmo vlnových délek², proto tímto problémem netrpí a jsou ve spojení s výkonnými xenonovými výbojkami velmi dobře použitelné. Bohužel tyto interferenční filtry nejsou zatím dostupné ve variantě s maximem propustnosti na 365 nm, odpovídajícím vyzařování běžně dostupných UV-A LED diod, proto jsme v tomto nasazení museli použít širokopásmové filtry BP340. Ty nemají tak výraznou propustnost ve viditelném spektru³ jako BP365, navíc UV-A LED diody vyzařují jenom relativně slabé viditelné světlo, proto je tato kombinace také použitelná. Nevýhodou LED diod ve srovnání s xenonovou výbojkou je výrazně nižší okamžitá intenzita produkovaného UV záření, proto i autofluorescence jimi vyvolávaná je slabší a vyžaduje tak i při použití extrémně citlivého fotoaparátu dlouhé expoziční časy.

Závěr

Ověřili jsme, že moderní fotografická technika je schopna pořizovat snímky autofluorescence řady přirozených i umělých materiálů. V současné době ověřujeme možnosti nasazení této metody při monitorování znečištění mikroplasty⁴ a ve forenzní medicíně; dalšími slibnými aplikacemi by mohly být dermatologie a stomatologie.

Tento výstup vznikl v rámci programu Cooperatio, vědní oblasti „Lékařská diagnostika a základní lékařské vědy“.

Literatura

- [1] Midwest Optical Systems Inc. *BP365 Near-UV Bandpass Filter* [online] © 2023 [Cit. 1. 5. 2023]. Dostupné z <https://midopt.com/filters/bp365/>
- [2] Midwest Optical Systems Inc. *Bi350 Near UV Interference Bandpass Filter* [online] © 2023 [Cit. 1. 5. 2023]. Dostupné z <https://midopt.com/filters/bi350/>
- [3] Midwest Optical Systems Inc. *BP340 Near-UV Bandpass Filter* [online] © 2023 [Cit. 1. 5. 2023]. Dostupné z <https://midopt.com/filters/bp340/>
- [4] Monteleone, A., Brandau, L., Schary, W a Wenzel, F. Using autofluorescence for microplastic detection – Heat treatment increases the autofluorescence of microplastics. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, roč. 76 (2020), s. 473–493, DOI: 10.3233/CH-209223