

Biofizikai gyakorlatok

(Jegyzőkönyv)

| | | | | |
|---|--------------------------------------|--|----------------------|-------------------------|
| A gyakorlat címe: Coulter-számláló és áramlási citometria | | A gyakorlatvezető neve: Juriga Dávid | | |
| A mérést végző hallgató vezetékneve: Demeter | Utóneve: Péter | Neptun kód: D4KXLI | Kar: VIK | Csoport: BME3 |
| A gyakorlat időpontja: 2019. 02. 12. | A jegyzőkönyv leadásának határideje: | | 2019. 02. 19. | |

A) A gyakorlat célja, feladatok:

A vér alakos elemeinek meghatározása fontos az orvosi diagnosztikában. A meghatározásra kevésbé hatékony módszer lehet Bürker kamra, de ez pontatlan, lassú és emberi hibafaktorral terhelt.

Ezeket figyelembe véve magától érhető cél a mérés automatizálása, mellyel gyorsabb, pontosabb eredményt kapunk, lehetőségekhez mérten minimális emberi interakcióval.

A mérés célja ilyen automatizált mérőeszközök működési elveinek alapjai megismerése.

A mérés során egy fiziológiás sóoldatot, egy ismert és egy ismeretlen koncentrációjú oldatot kell vizsgálnunk egy Coulter-számláló segítségével.

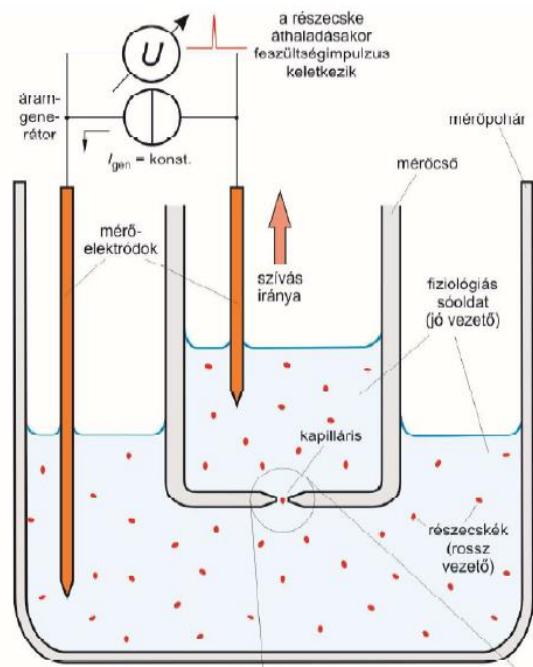
A mérőtárs(ak) neve: **Vezse Panna, Takács Tamás**

B) A használt anyagok és eszközök, egyéb fontosabb körülmények:

Medicor Type PS4

Fontosnak tartom megemlíteni, hogy a gép szebb napokat is látott már, véleményem szerint fals eredményeket mért.

C) A gyakorlat elméletének rövid összefoglalója **ábrákkal** illusztrálva, a mérés elve, a mérési elrendezés, az adatok kiértékeléséhez szükséges legfontosabb összefüggések, továbbá a tananyag olvasása közben felmerült **kérdések**: (Ez a rész **ne legyen az itt rendelkezésre álló helynél hosszabb és hivatkozásokat ne tartalmazzon!**)



A Coulter-számláló a sejtek detektálását impedanciamérés segítségével végzi. A mérőkapilláris – melyben a detektálandó sejtek haladnak – két oldalára egy-egy elektródát helyeznek el. A kapillárisban az áramló részecskék megváltoztatják a két elektróda között mérhető impedancia nagyságát, ezáltal érzékelhető, hogy áthaladt-e részecske az elektródák közt.

A számlálónak van egy integrál diszkriminátora (ID), mellyel szabályozható a minimális impedancia változás, melyet számoljon a gép. Ennek segítségével a különböző elemeket is vizsgálhatunk, melyre az általunk használt gépnek három előre beállított értéke is van (RBC, WBC, PBC).

Valamennyi mérésünket 70 µm-es mérőkapillárisal és 400 µA-es mérőárammal végezzük. Majd valamennyi mért adatra hitelesítési értéket (jele: h) számolunk, ami megmutatja, hogy a tényleges és a mért részecskekonzentráció milyen arányban áll egymással.

$$h = \frac{C_{\text{tényleges}}}{C_{\text{mért}}} [-]$$

| | | |
|---|------------|------------|
| A jegyzőkönyv értékelése (A gyakorlatvezető kézjegye a minősítésnek megfelelően) | | Dátum: |
| Nem felelt meg: | Javítandó: | Megfelelt: |

Hallgató aláírása:

D) A gyakorlat során nyert adatok:
(méréssorozat esetén táblázatos formában)

Az adatok elfogadtatása:
(a gyakorlatvezető kézjegye)
A gyakorlat végén alá kell írni!
Enélkül a jegyzőkönyv sem fogadható el!

Ide csak a „nyers” adatok kerüljenek! (Még akkor is, ha sok hely marad.) (A kiértékelés mindig új lapon kezdődjön!)

| mérendő oldat | U_d [V] | n_1 [E+04 db/ μ l] | n_2 [E+04 db/ μ l] | n_3 [E+04 db/ μ l] |
|-----------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| fiziológiás sóoldat (sárga) | RBC | 0,2 | 0,15 | 0,16 |
| ismert koncentráció | RBC | 591 | 594 | 602 |
| | 0,5 | 862 | 850 | 823 |
| | 1 | 795 | 784 | 785 |
| | 1,5 | 711 | 724 | 734 |
| | 2 | 626 | 601 | 614 |
| | 2,5 | 535 | 549 | |
| | 3 | 491 | 496 | |
| | 3,5 | 361 | 381 | |
| | 4 | 208 | | |
| | 4,5 | 164 | | |
| | 5 | 135 | | |
| | 5,5 | 96 | | |
| | 6 | 84 | | |
| | 6,5 | 64,6 | | |
| | 7 | 56,7 | | |
| | 7,5 | 50,9 | | |
| 8 | 45,5 | | | |
| 8,5 | 63,2 | | | |
| 9 | 49,1 | | | |
| ismeretlen oldat (piros) | RBC | 753 | 718 | |

(Csatolt dokumentumban az eredeti, kézzel írott és gyakorlatvezető által szignózott mérési adatok)

Önellenőrző lista a jegyzőkönyv elfogadásának érdekében (minimumkövetelmények):

- 1.) A jegyzőkönyv **külsőalakja** megfelelő
- 2.) A mérési **adatok jól áttekinthetők**, jók a mértékegységek (**E**)
- 3.) A grafikonok **fejlécén** látható, hogy mit ábrázoltunk és mik a mértékegységek (**E**)
- 4.) A grafikonok **tengelyein** látható, hogy mit ábrázoltunk és mik a mértékegységek (**E**)
- 5.) A grafikonok tengelyeinek **skálázása** értelmes (a felesleges tartományokat nem tüntettük fel) (**E**)
- 6.) A **kiértékelés követhető** és a mért adatok alapján történt, a következtetéseket levontuk (**E, F**)
- 7.) Minden feladatot elvégeztünk, a feltett **kérdések mindegyikére válaszoltunk** (**E, F**)
- 8.) A jegyzőkönyv **összefűzve** készen van

Javasolt a kiértékelés számítógéppel történő elvégzése, de a hagyományos (mm papír, stb.) módon készített jegyzőkönyv is elfogadható. Mivel a kiértékelés és a következtetések a jegyzőkönyv részei, lapjait össze kell fűzni ezzel! (Otthoni munka a gyakorlat elvégzése után.)

Hallgató aláírása:

E) Kiértékelés:*(az adatok rendezett bemutatása, a számítások részletes elvégzése, a szükséges grafikonok elkészítése)***1) Mérési zaj meghatározása**

A fiziológiás sóoldatban tudjuk, hogy zérus mennyiséget kellene észlelnie a gépnek, így a mért adat a gép és a mérés zajának tudható be. A zaj abból eredhet, hogy a gép is lehet pontatlan, illetve az oldat is szennyeződhet (levegőből, tárolásból, stb).

Gép beállítása: RBC gomb, *10 gomb megnyomva, ID szint beállítás: 0

2) Hitelesítési érték számítása

Ezután az ismert koncentrációjú oldalt is megmértük RBC diszkrimináltkor szinten, melyet korrigáltam a zaj értékkel. Ebből kiszámoltam a hitelesítési értéket, mely segítségével az ismeretlen koncentrációjú oldatnak kiszámítottam a koncentrációját.

Gép beállítása: RBC gomb megnyomva, ID szint beállítás: 0

$$\text{Hitelesítési érték: } h = \frac{c_{\text{tényleges}}}{c_{\text{mért}}} = \frac{461 \cdot 10^4 / \mu\text{l}}{595,667 \cdot 10^4 / \mu\text{l}} = 0,774 [-]$$

| mérendő oldat | U _d [V] | n ₁ [E+04 db] | n ₂ [E+04 db] | n ₃ E+04 db] | Nátlag [E+04 db] | Cmért [E+04 1/μl] | Cszámított [E+04 1/μl] |
|------------------------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|
| fiziológiás sóoldat (sárga) | RBC | 0,2 | 0,15 | 0,16 | 0,17 | | |
| ismert koncentráció (fekete) | RBC | 591 | 594 | 602 | 595,6666667 | 595,4966667 | |
| | 0,5 | 862 | 850 | 823 | 845 | 844,83 | 654,0198322 |
| | 1 | 795 | 784 | 785 | 788 | 787,83 | 609,8936406 |
| | 1,5 | 711 | 724 | 734 | 723 | 722,83 | 559,5742993 |
| | 2 | 626 | 601 | 614 | 613,6666667 | 613,4966667 | 474,9345868 |
| | 2,5 | 535 | 549 | | 542 | 541,83 | 419,4542875 |
| | 3 | 491 | 496 | | 493,5 | 493,33 | 381,9083174 |
| | 3,5 | 361 | 381 | | 371 | 370,83 | 287,0757127 |
| | 4 | 208 | | | 208 | 207,83 | 160,8902877 |
| | 4,5 | 164 | | | 164 | 163,83 | 126,8279643 |
| | 5 | 135 | | | 135 | 134,83 | 104,3777967 |
| | 5,5 | 96 | | | 96 | 95,83 | 74,18619192 |
| | 6 | 84 | | | 84 | 83,83 | 64,89646737 |
| | 6,5 | 64,6 | | | 64,6 | 64,43 | 49,87807936 |
| | 7 | 56,7 | | | 56,7 | 56,53 | 43,76234404 |
| | 7,5 | 50,9 | | | 50,9 | 50,73 | 39,27231051 |
| | 8 | 45,5 | | | 45,5 | 45,33 | 35,09193446 |
| 8,5 | 63,2 | | | 63,2 | 63,03 | 48,79427817 | |
| 9 | 49,1 | | | 49,1 | 48,93 | 37,87885183 | |
| ismeretlen oldat (piros) | RBC | 753 | 718 | | 735,5 | 735,33 | 569,2510957 |

3) Ismeretlen koncentráció megállapítása

Az ismeretlen koncentrációjú oldatot azonos módon lemértük, ahogy az ismertet. A kapott értéket korrigáltam a zajjal, majd a hitelesítési értékkel.

Gép beállítása: RBC gomb megnyomva, ID szint beállítás: 0

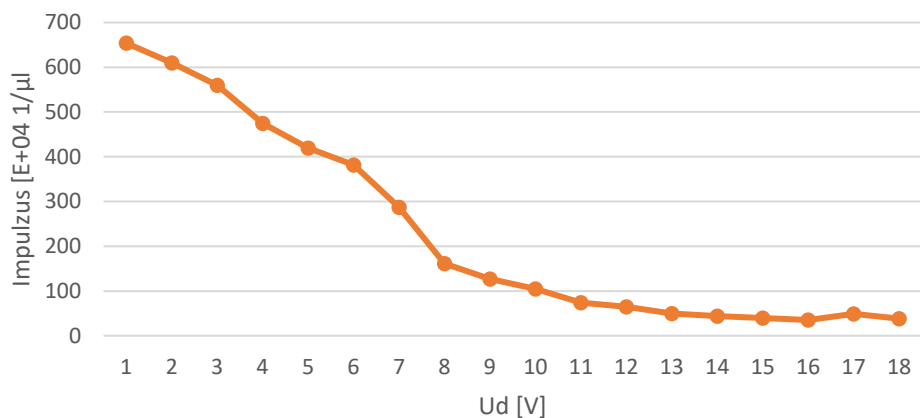
$$c_{\text{ismeretlen}} = h * c_{\text{mért}} = 0,774 * 735,33 * 10^4 / \mu\text{l} = 569,251 * 10^4 / \mu\text{l}$$

4) Ismert koncentrációjú oldat impulzus válasza váltakozó integrál diszkriminátor szintre

Gép beállítása: a különböző ID szinteket beállítva hajtottuk végre a méréseket, melyek eredményét a fenti táblázat tartalmaz.

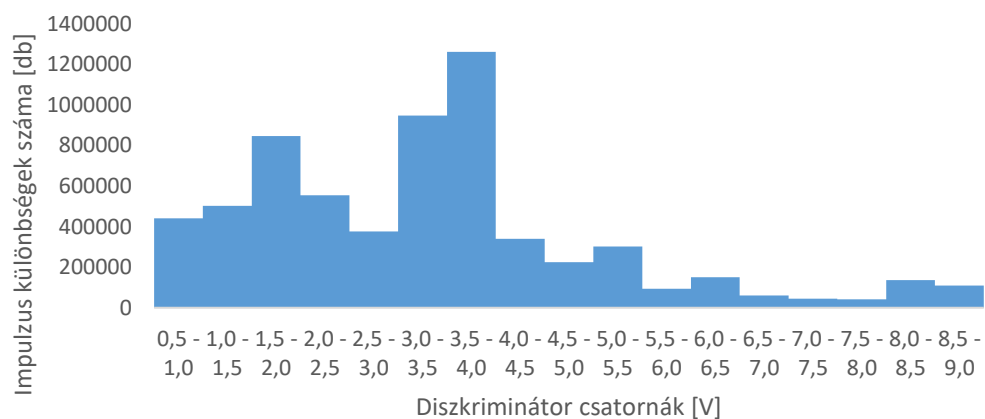
Hallgató aláírása:

Ismert koncentrációjú oldat mérése változó diszkriminátor szint mellett



| U _d tartomány [V] | Δn [1/μl] |
|------------------------------|-------------|
| 0,5 - 1,0 | 441261,9158 |
| 1,0 - 1,5 | 503193,4128 |
| 1,5 - 2,0 | 846397,1251 |
| 2,0 - 2,5 | 554802,9936 |
| 2,5 - 3,0 | 375459,7003 |
| 3,0 - 3,5 | 948326,0472 |
| 3,5 - 4,0 | 1261854,251 |
| 4,0 - 4,5 | 340623,2333 |
| 4,5 - 5,0 | 224501,6765 |
| 5,0 - 5,5 | 301916,0477 |
| 5,5 - 6,0 | 92897,24544 |
| 6,0 - 6,5 | 150183,8801 |
| 6,5 - 7,0 | 61157,35325 |
| 7,0 - 7,5 | 44900,33529 |
| 7,5 - 8,0 | 41803,76045 |
| 8,0 - 8,5 | 137023,437 |
| 8,5 - 9,0 | 109154,2634 |

Ismert koncentrációjú oldat különböző diszkriminátor szinten történő mérések histogramja



Hallgató aláírása:

F) Következtetések:

(válaszok a feltett kérdésekre **kérdés-felelet** formában):

A fiziológias sóoldattal kalkulált zaj érték alapján a gép nem alkalmas alacsony számban előforduló alakos elem mérésére.

A számított hitelesítési érték akár realiztikus is lehet, azonban a mérések során többször előfordult, hogy egy-egy mérést korruptnak tekintve a mérést megismételtük az oldatot előkészítve a méréshez. *(Akkor tekintettünk egy mérést korruptnak, ha a mért adat legalább 35%-al magasabb értéket adott, mint az előző integrál diszkriminátor szinten mért értéknél.)* Véleményem szerint ezért megalapozottan bizalmatlanok lehetünk az eszközzel.

Emiatt a bizalmatlanság miatt a kiszámított ismeretlen oldat koncentrációjának hitelességét is jogosan kérdőjelezhetjük meg. Melyet erősít a tény, hogy a 8V-os diszkriminátor szintnél számított koncentrációnál magasabb volt mind a 8,5V-os, mint a 9V-os számított koncentráció is, ami elméletileg nem helyes.

A mérést kapcsán további bizalmatlanságra adhat okot az diszkriminátor kézzel való beállítása egy csúszkán, amin többször is két beosztás közé kellett helyezni a beállítást. Ez magától érthetően pontatlan.

Azonban tökéletesen funkcionáló géppel is érdemes azonos diszkriminátor szinten többször mérni, mert különböző értékeket kaphatunk, ha több, összetapadt alakos elem jut át egyszerre a kapillárison.

A Coulter-számláló elvi működéséből fakadó számítási hibák miatt manapság az áramlási citometria mérési elveit szokás alkalmazni a vér alakos elemeinek számának meghatározására.

Ennél a mérési módszernél speciális folyadékot alkalmazunk a mérendő anyag mérési kapillárison való átvezetés közben. Ez a folyadék csökkenti az alakos elemek összetapadásának valószínűségét. Majd lézeres fényforrással megvizsgáljuk a fényszóródásokat vizsgálunk. A detektor(ok) elhelyezkedésével, fényforrások választásával több egyéb információra is szert tehetünk a mérés során (pl.: alakos elem mérete). Tehát nem csak pontosabb, de több információt is nyújthat.

Hallgató aláírása: