

Coulter-számláló

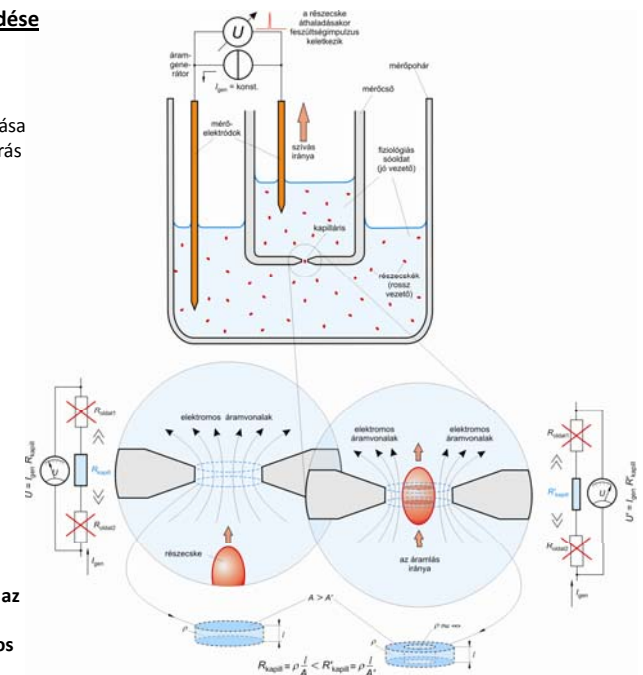
Elektronikus alakoselem-számlálás

2015. 02. 11.

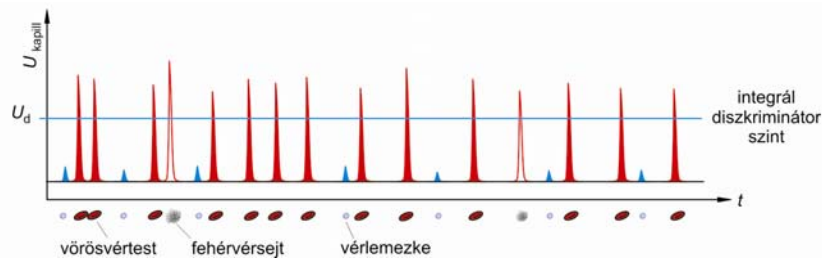
Coulter-számláló elvi működése

A vér alakoselem-koncentrációjának meghatározása
→ elektronikus számlálási eljárás

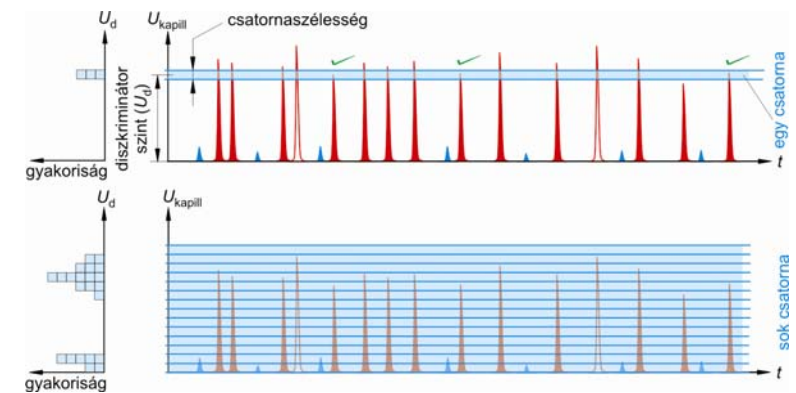
Jól vezető folyadék
alakoselem nem vezet →
ellenállásként funkcionál
↓
Minden egyes részecske
áthaladása egy
feszültségimpulzust vált ki → az
impulzusok amplitúdója a
részecske térfogatával arányos



| | vörösvértest | fehérvérsejt (granulocita) | fehérvérsejt (limfocita) | vérlemezke |
|---------------------------|--------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------|
| koncentráció (1/ μ l) | $4-5,9 \cdot 10^6$ | $3-7 \cdot 10^3$ | $1,2-3 \cdot 10^3$ | $1,5-4 \cdot 10^5$ |
| átmérő (μ m) | 7-8 | 10-12 | 5-6 | 2-3 |



Differenciál diszkriminátor és a sokcsatornás analízátor működése



PICOSCALE Coulter-számláló



Mérés menete

Minden mérés esetén: 70 μm-es mérőkapilláris
400 μA mérőáram
3 párhuzamos mérés!!!

1. Fiziológias sóoldat (SÁRGA) tisztaságának ellenőrzése

- 10x-es érzékenységű kijelzés → x10 szorzógomb benyomva
- Gyárilag beállított ID → RBC-gomb benyomva
- Észlelt részecskeszám → háttér

2. Ismert koncentrációjú , hitelesítő oldat (FEKETE) mérése

- Gyári ID → RBC-gomb benyomva

Hitelesítési érték (h) meghatározása

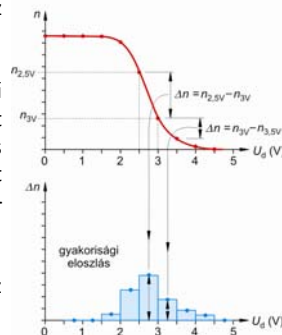
A hitelesítési érték megadja, hogy a tényleges és a mért részecske-koncentráció milyen arányban áll egymással

$$h = c_{\text{tényl}} / c_{\text{mért}} = c_{\text{tényl}} / (n \cdot 10^4 / \mu\text{l})$$

n: kijelzőről leolvasott szám

$$c_{\text{tényl}} = 4.61 \cdot 10^6 \text{ 1/}\mu\text{l}$$

- Mérjük a mintán impulzusszámot változtatható ID üzemmódban (ID 0-100 gomb benyomva)! A tolópotenciométerrel növeljük az ID-szintet (U_d) 0-tól kezdve 0.5 V-onként (5 osztásonként), amíg az impulzusszám a háttér néhányszorosáig csökken!
- Ábrázoljuk a mérési eredményeket (n impulzusszám vs. ID-szint (U_d))!
- Keressük meg a grafikonon, hol lehet az RBC álláshoz tartozó, gyárilag beállított diszkriminációs szint ($U_{d,RBC}$)!
- Számoljuk ki az impulzusszámokból a 0.5 V szélességű amplitúdó osztályokhoz tartozó impulzus gyakoriságokat (pl. a 2.5 V – 3 V intervallumhoz tartozó impulzus gyakoriságot úgy kapjuk meg, hogy a 2.5 V-nál mért impulzus számból kivonjuk a 3 V-nál kapottat. $\Delta n = n_{2.5V} - n_{3V}$)!
- Rajzoljunk hisztogramot az adatokból (Δn impulzusszám az U_d ID-szint függvényében)!



3. Ismeretlen koncentrációjú minta (PIROS) mérése

- Gyári ID → RBC gomb benyomva

Hitelesítési érték figyelembevételével határozzuk meg a minta valódi koncentrációját!

$$c_{\text{tényl}} = h \cdot c_{\text{mért}} = h \cdot n \cdot 10^4 / \mu\text{l}$$

Ügveljünk a következőkre:

- A mérendő szuszpenziót mérés előtt párszor fel-le kell forgatni!
- Ne hagyjuk fedetlenül az oldatokat!
- Minden impulzusszámot 3 mérésből átlagolással határozzunk meg!

| méréndő oldat | U_d | impulzusszám n | | | átlagolt imp. számok ($n_{\text{át}}$) |
|--|-------|--|--|--|--|
| | | impulzusszámok (n , a kijelzőről leolvasva) | | | |
| ismert koncentrációjú oldat (FEKETE) | RBC | | | | |
| | 0,5 V | | | | |
| | 1 V | | | | |
| | 1,5 V | | | | |
| | 2 V | | | | |
| | 2,5 V | | | | |
| | 3 V | | | | |
| | 3,5 V | | | | |
| | 4 V | | | | |
| | 4,5 V | | | | |
| | 5 V | | | | |
| | 5,5 V | | | | |
| | 6 V | | | | |
| | 6,5 V | | | | |
| | 7 V | | | | |
| | 7,5 V | | | | |
| | 8 V | | | | |
| 8,5V | | | | | |
| 9 V | | | | | |
| 9,5 V | | | | | |
| 10 V | | | | | |
| ismeretlen koncentrációjú oldat (PIROS) | RBC | | | | |

Táblázat a hisztogram készítéséhez:

| csatorna | n_{U1} | n_{U2} | $\Delta n = n_{U1} - n_{U2}$ |
|------------|----------|----------|------------------------------|
| 0,5 - 1 V | | | |
| 1 - 1,5 V | | | |
| 1,5 - 2 V | | | |
| 2 -2,5 V | | | |
| 2,5 - 3 V | | | |
| 3 - 3,5 V | | | |
| 3,5 - 4 V | | | |
| 4 - 4,5 V | | | |
| 4,5 - 5 V | | | |
| 5 - 5,5 V | | | |
| 5,5 - 6 V | | | |
| 6 - 6,5 V | | | |
| 6,5 - 7 V | | | |
| 7 - 7,5 V | | | |
| 7,5 - 8 V | | | |
| 8 - 8,5 V | | | |
| 8,5 - 9 V | | | |
| 9 - 9,5 V | | | |
| 9,5 - 10 V | | | |

Minta adatsor:
 Fiziológias sóoldatra mért impulzusszámok: 16, 19, 25

| méréndő oldat | U_d | impulzusszám n | | | átlagolt imp. számok ($n_{\text{át}}$) |
|---|-------|--|-----|-----|--|
| | | impulzusszámok (n , a kijelzőről leolvasva) | | | |
| ismert koncentrációjú oldat (FEKETE) | RBC | 396 | 398 | 409 | |
| | 0,5 V | 730 | 752 | 773 | |
| | 1 V | 479 | 471 | 470 | |
| | 1,5 V | 443 | 442 | 440 | |
| | 2 V | 408 | 403 | 408 | |
| | 2,5 V | 382 | 372 | 371 | |
| | 3 V | 342 | 342 | 346 | |
| | 3,5 V | 297 | 299 | 300 | |
| | 4 V | 259 | 267 | 258 | |
| | 4,5 V | 209 | 213 | 215 | |
| | 5 V | 171 | 168 | 173 | |
| | 5,5 V | 124 | 129 | 127 | |
| | 6 V | 88 | 91 | 93 | |
| | 6,5 V | 79 | 75 | 81 | |
| | 7 V | 62 | 63 | 65 | |
| | 7,5 V | 48 | 44 | 42 | |
| | 8 V | 32 | 35 | 33 | |
| | 8,5V | 31 | 34 | 32 | |
| | 9 V | 27 | 24 | 28 | |
| | 9,5 V | 23 | 21 | 20 | |
| | 10 V | 22 | 22 | 20 | |
| ismeretlen koncentrációjú oldat (PIROS) | RBC | 644 | 661 | 663 | |