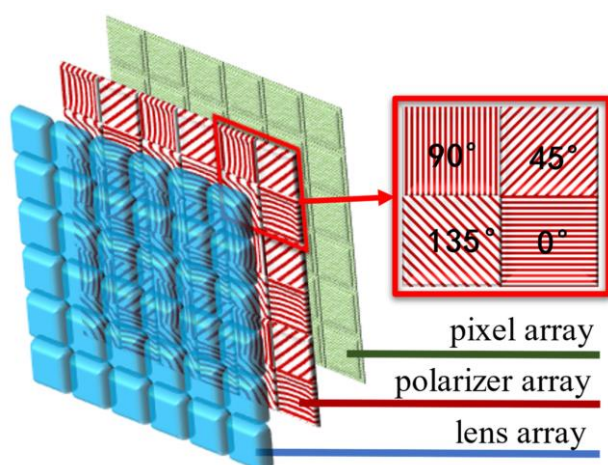


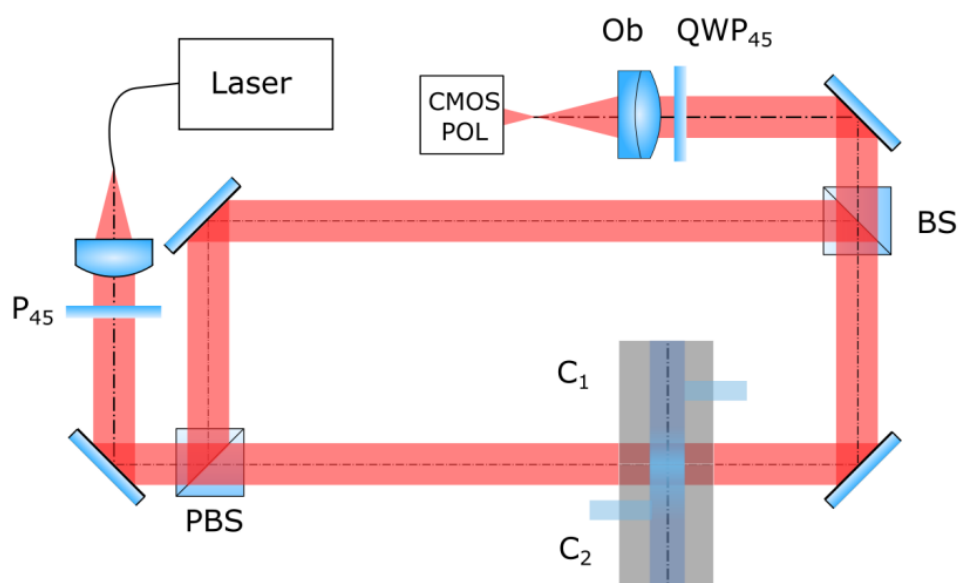
Zadanie 2.

Wstęp teoretyczny.

Celem projektu było określenia dyfuzji leków przez biomembrany lub biofilmy. Biofilm to ochronna błona bakterii. Wyniki zostały uzyskane dzięki metodzie interferometrii „jednego strzału”, wykorzystującej czujnik CMOS czuły na polaryzację (Rysunek 1). W ten sposób zbierając jeden obraz fazowy za pomocą polaryzacyjnej wersji interferometru Macha-Zehndera (Rysunek 2) uzyskiwano cztery interferogramy z przesuniętą fazą. Na podstawie czterech obrazów wykorzystując metodę czasowej dyskretnej zmiany fazy wyznaczono fazę badanego obiektu, którym była kuweta zawierająca biofilm oraz lek.



Rysunek 1 Budowa sensora wyposażonego w macierz mikropolaryzującą.



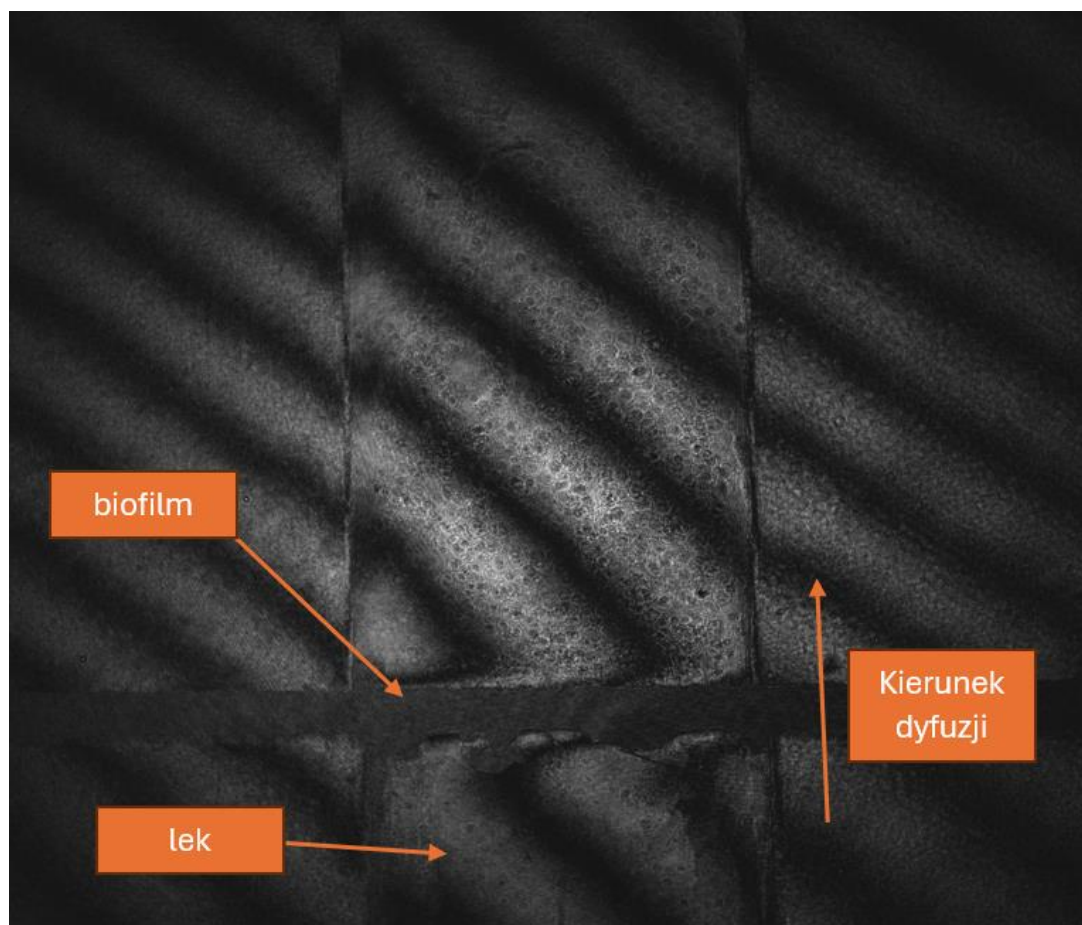
Rysunek 2 Laser: laser VBG 633 nm, polaryzator liniowy P_{45} , PBS: rozdzielacz wiązek polaryzacyjnej, C_1 , C_2 : odpowiednio górny i dolny przedział kuwety, z koncentracjami $C_2 > C_1$, BS: dzielnik wiązek, $QW P_{45}$ - płytka ćwierćfalowa, Ob : obiektyw zmiennoogniskowy 80-200

mm, CMOS POL: kamera CMOS wyposażona w sensor z mikropolarizatorem (IMX250MZR, Sony), rozmiar piksela: 3,45 μm , 2448 x 2048 pikseli.

Powiązanie zmian w parametrach fizycznych z procesami biologicznymi jest wyzwaniem. Jedną z metod rozwiązania tego problemu jest badanie dyfuzji leku przez biofilm za pomocą interferometrii laserowej. Na przykład, gdy parametry biofilmu przestają się zmieniać pomimo ciągłej dyfuzji antybiotyku przez biofilm, można stwierdzić, że bakterie przestały reagować na działanie antybiotyku. Informacje o tym, przy jakim stężeniu antybiotyku i po jakim czasie ten proces się rozpoczyna, są bardzo cenne dla biologów

W niniejszym projekcie przeprowadzono badanie dyfuzji ampicyliny przez biofilm *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Pseudomonas aeruginosa* to tlenowa bakteria Gram-ujemna, oportunistyczny patogen ludzki, powodujący przewlekłe i ostre infekcje ran oparzeniowych, dróg oddechowych i moczowych. Szczególnie narażeni są pacjenci z nowotworami, zakażeniem HIV oraz osoby z obniżoną odpornością. Wysoce zróżnicowane gatunki *P. aeruginosa*, zdolne do tworzenia biofilmów, są powszechne w środowisku i naturalnie odporne na wiele leków, jednak ampicylina proponowana do tego badania jest znana ze swojej zdolności do penetracji biofilmu.

Pojedynczy zebrany interferogram odpowiadający polaryzacji 0 wyglądał następująco:



W tej technice pomiarowej badana jest faza fali świetlnej będąca wynikiem interferencji wiązki obiektowej oraz przedmiotowej:

$$\varphi = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta n d,$$

gdzie:

d - grubość kuwety,

λ – długość fali,

Δn – współczynnik załamania.

Na tej podstawie stężenie substancji będzie równa:

$$C(x, t) = C_0 + \alpha \Delta n,$$

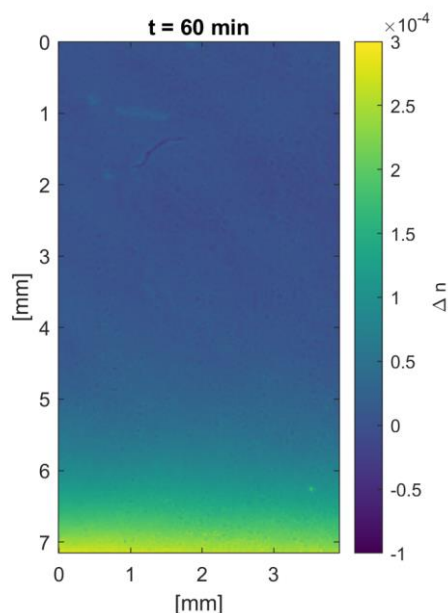
α – współczynnik proporcjonalności stężenia,

Wartość stężenia, które przedyskutowało przez membranę będzie równa:

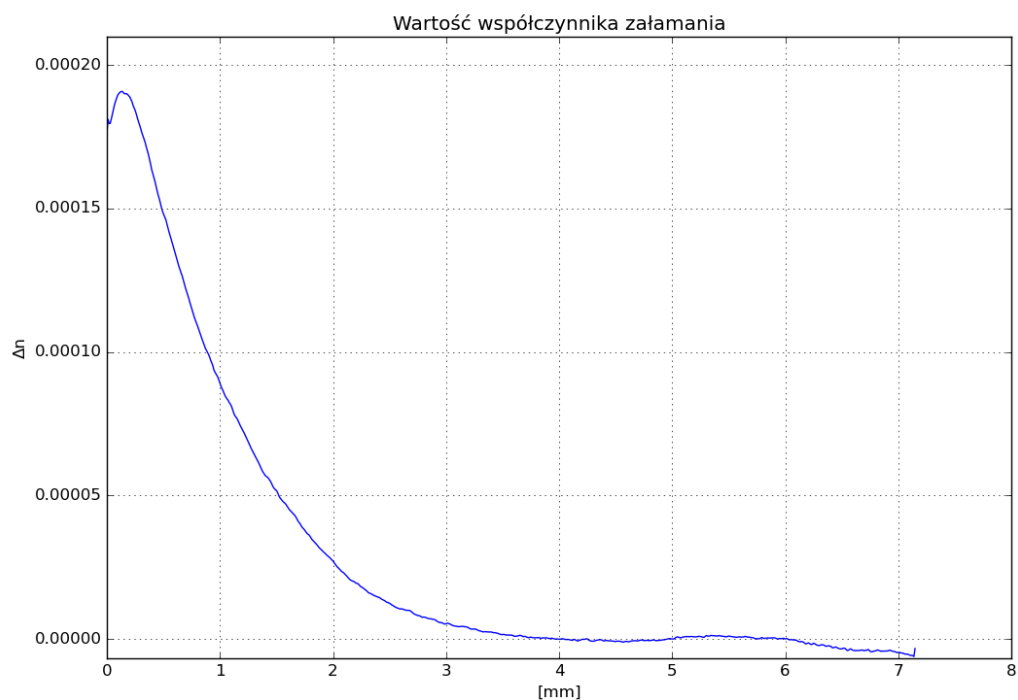
$$N(t) = S \int_0^{\delta} C(x, t) dx,$$

Część obliczeniowa

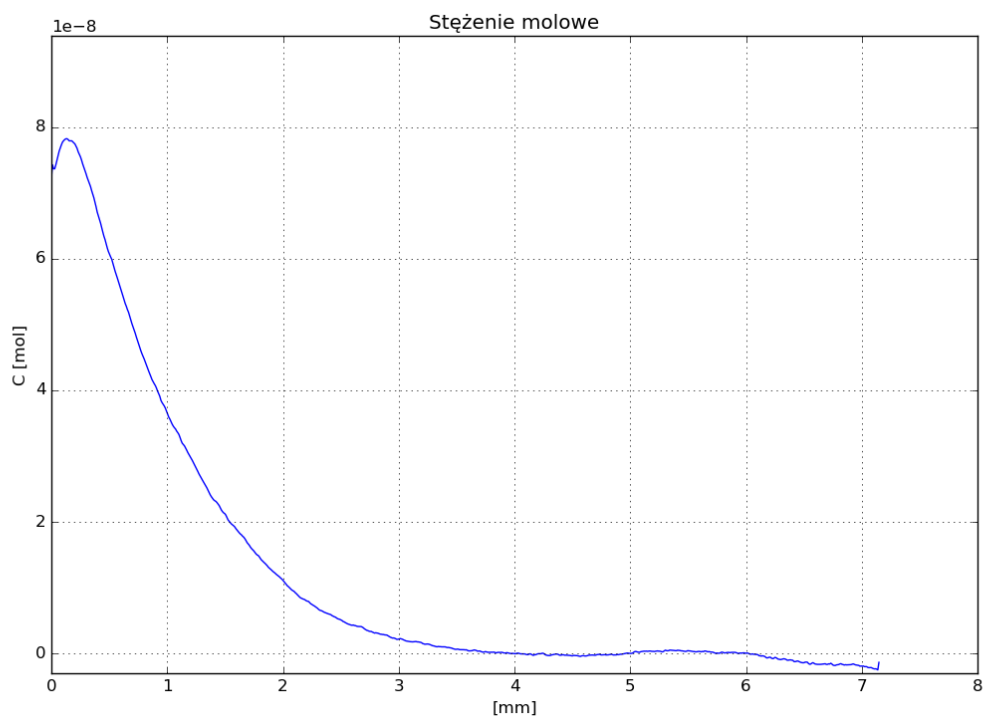
Wczytano zestaw 60 pomiarów zbieranych podczas godzinowego badania dyfuzji ampicyliny przez biofilm. Wczytano już przetworzone mapy 2D reprezentujące współczynnik załamania w kuwecie. Poniżej przedstawiono współczynnika załamania dla ostatniego pomiaru wykonanego po 60 minutach.



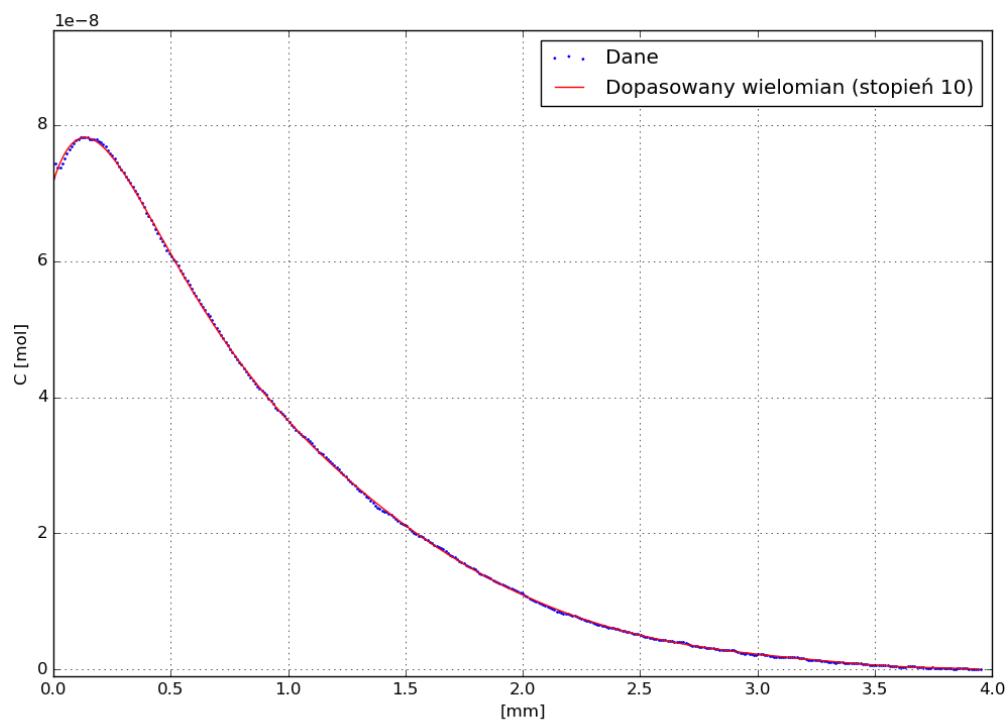
Z macierzy 2D wyznaczono wartość współczynnika załamania w przekroju próbki jako uśrednioną wartość Δn każdym wierszu, którą przedstawiono poniżej.



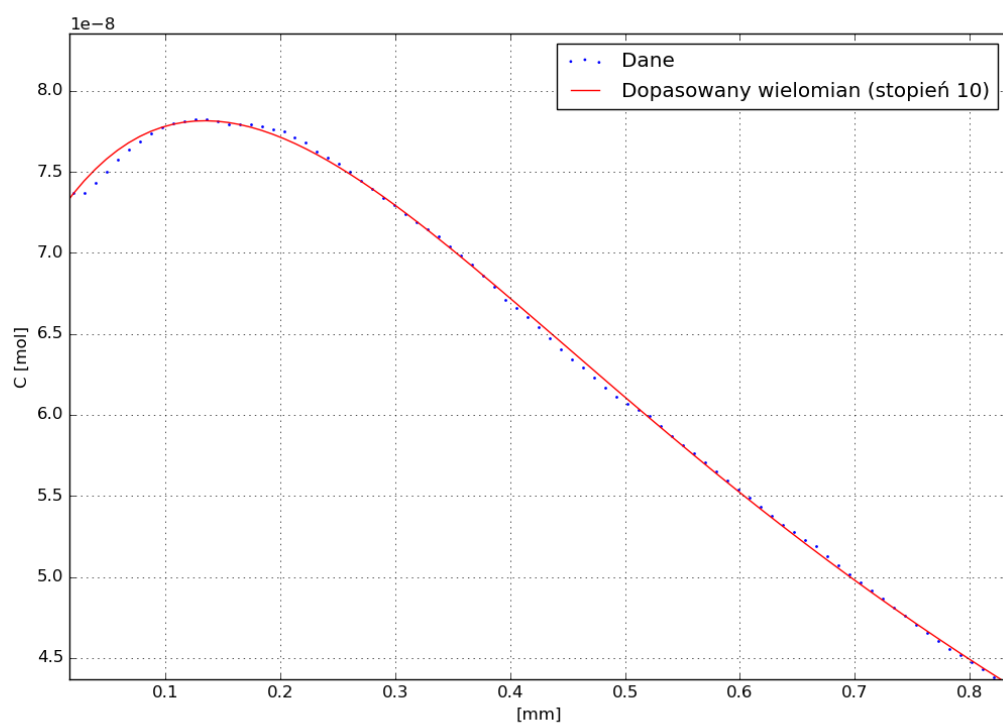
Poniżej umieszczono wyznaczoną wartość stężenia substancji poprzez pomnożenie wartości Δn przez współczynnik proporcjonalności stężenia (należało również uwzględnić parametry układu pomiarowego takie jak powiększenie oraz wielkość piksela).



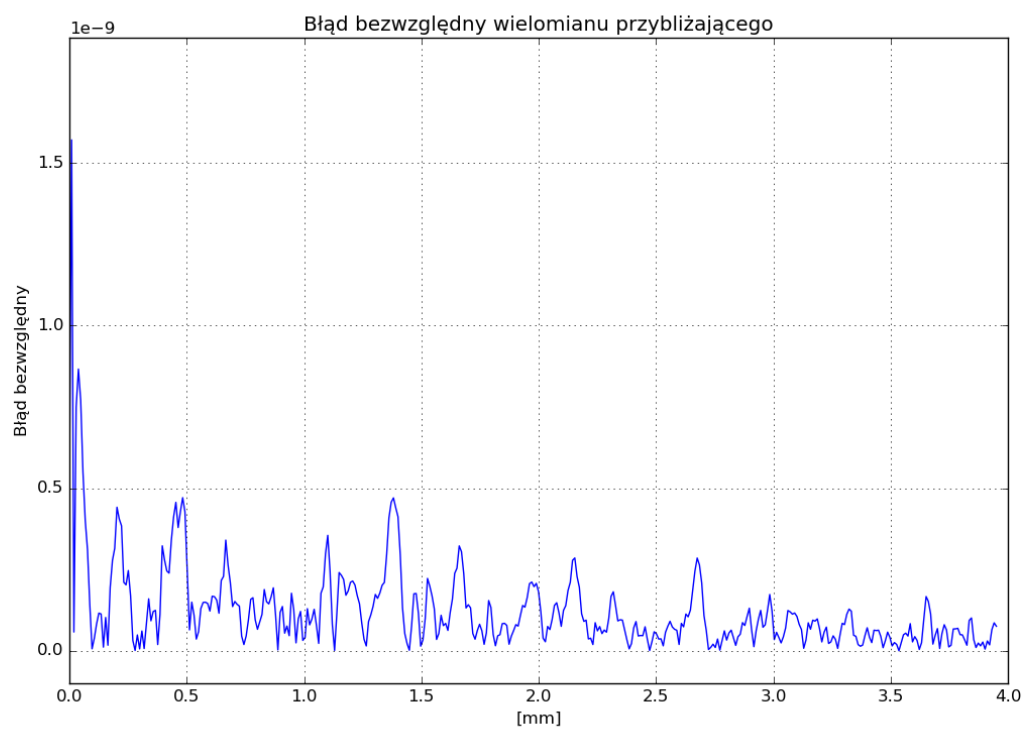
Przyjęto przedział od 0 do 4 mm, ponieważ to miejsce zostało przyjęte jako płaszczyzna odniesienia wyznaczona z obszaru referencyjnego. Dla tak przygotowanego obszaru wykonano interpolację punktów przez zastosowanie wielomianu 10 stopnia (funkcja polyfit z biblioteki numpy), która została zaprezentowana poniżej.



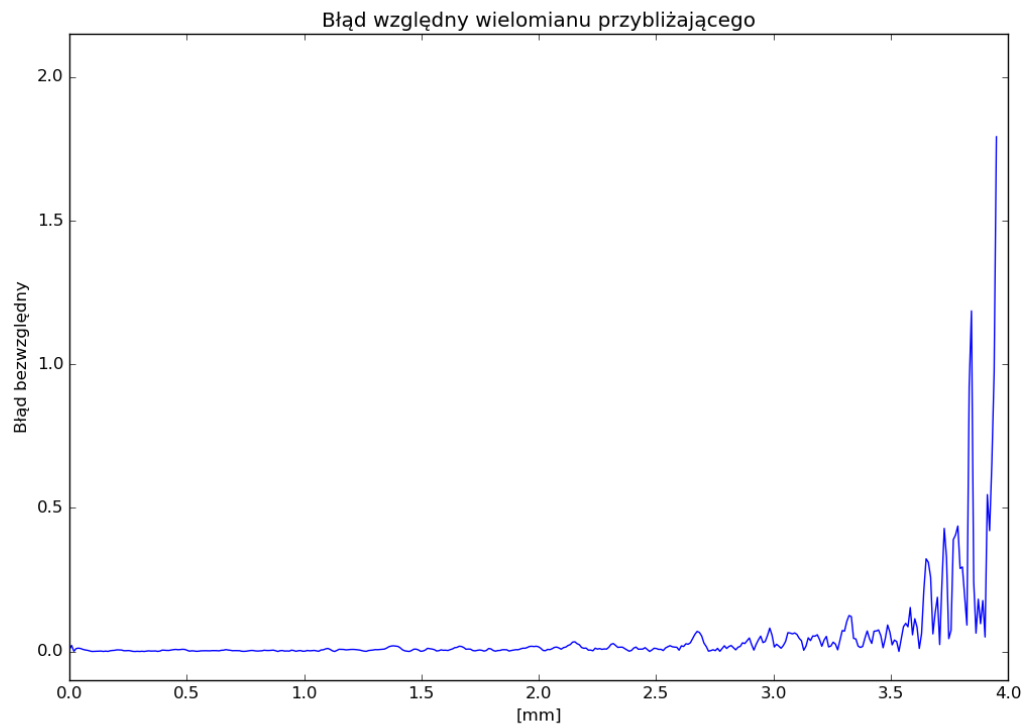
Poniżej widać przebieg przybliżonej funkcji w powiększeniu.

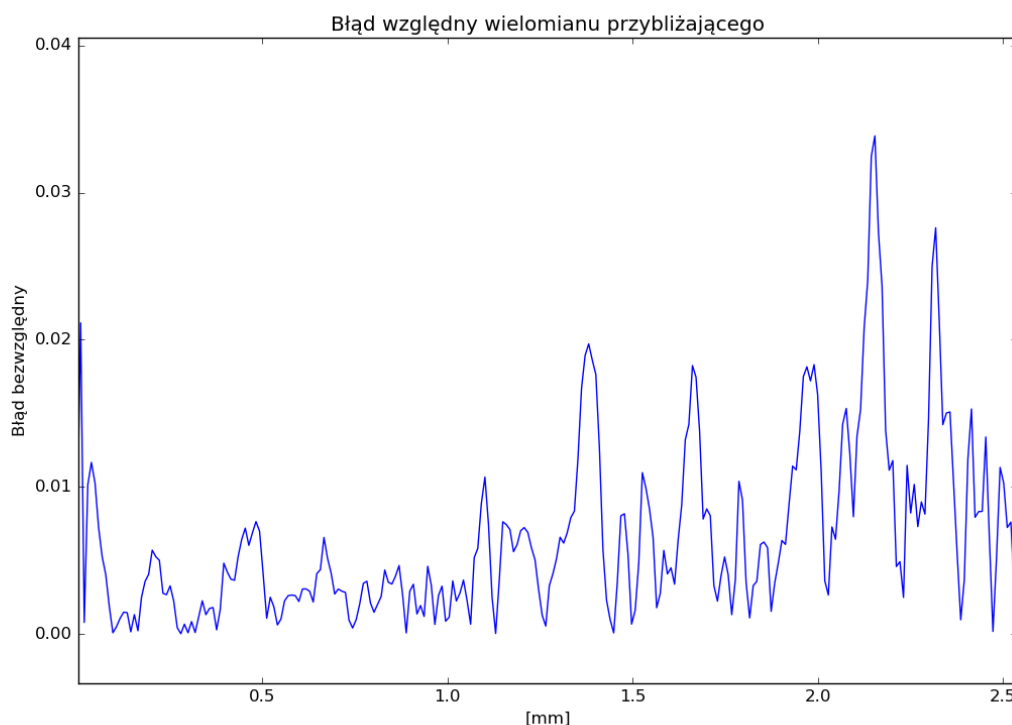


Wyznaczono wartości błędu bezwzględnego wielomianu interpolacyjnego, które zaprezentowane zostały na poniższym wykresie.



Charakterystyki poniżej przedstawiają wartości błędu względnego wielomianu interpolacyjnego.





Błąd względny w części obszaru o najwyższym stężeniu nie przekraczał 0,04%. Dla małych wartości stężenia otrzymano maksymalny błąd względny równy 1,7%. Na tej podstawie uznano, że dokładność przybliżenia była wystarczająca. W celu potwierdzenia jakości interpolacji wyznaczono wartość współczynnika determinacji:

Wartość R^2 : 0.999944764189407

Wyznaczony wielomian stopnia 10 opisuje 99,99448% danych. Uznano, że jest to wystarczająca dokładność do wyznaczenia stężenia substancji. Zwiększenie stopnia wielomianu wprowadzało znaczące błędy przy operacji całkowania.

Całkowanie

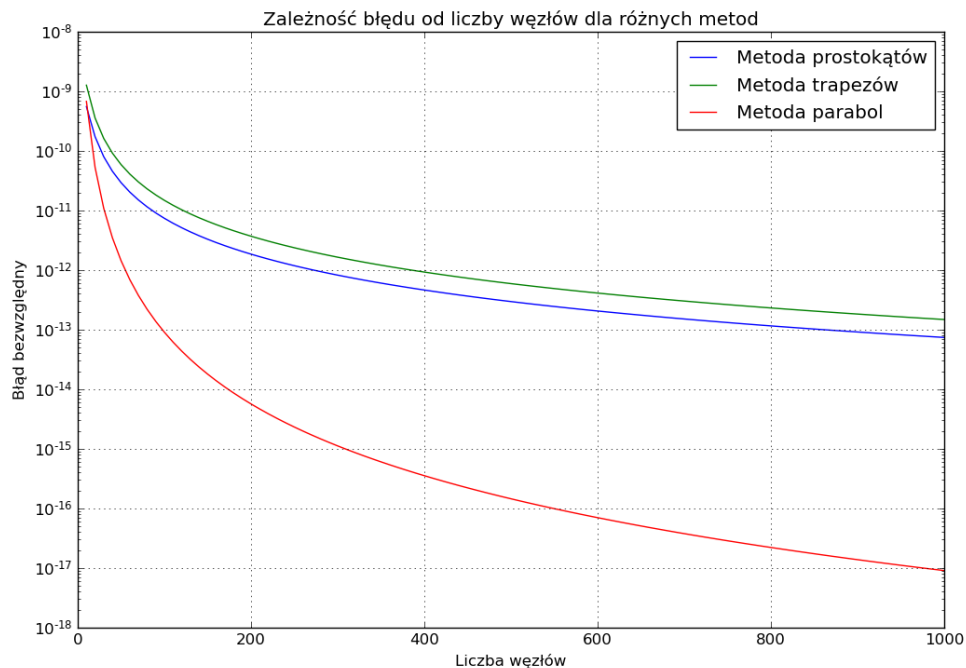
Wartość stężenia, które przedyskutowało przez biofilm, możemy wyznaczyć obliczając całkę z funkcji opisującej stężenie. W tym celu wykorzystano funkcję quad z biblioteki scipy.integrate. Uzyskano następującą wartość stężenia:

Stężenie substancji od $x=0.0$ do $x=3.9509399873232836$ wynosi: $8.862394766443552e-08$

W celu zbadania wpływu antybiotyku na biofilm należałoby wyznaczyć wartość całki dla wszystkich obrazów zebranych podczas godzinowego badania.

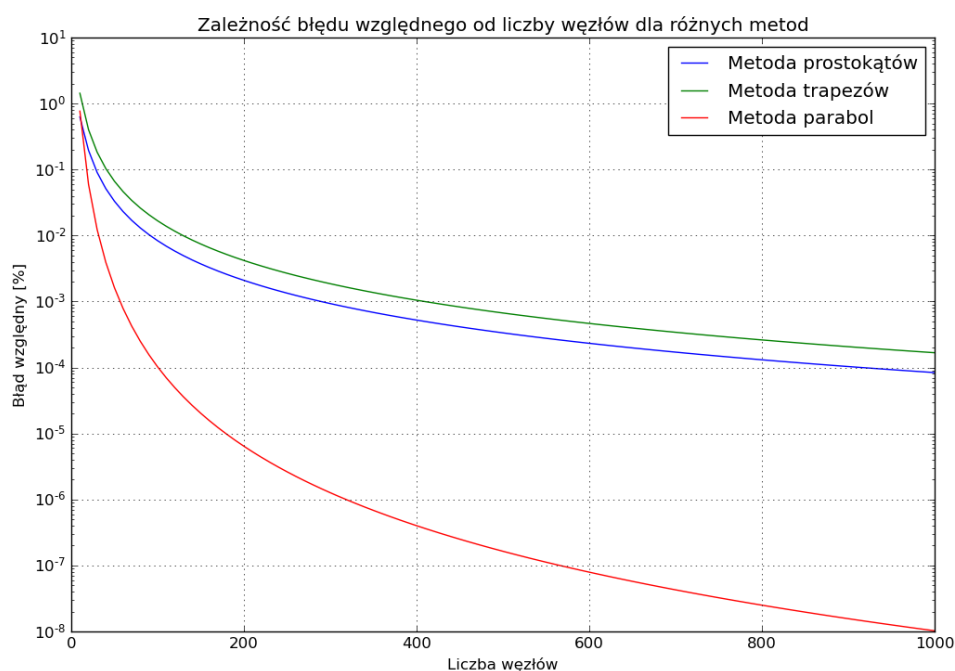
Wykonano pomiar dokładności trzech metod całkowania numerycznego (prostokątów, trapezów oraz parabol) w zależności od liczby węzłów na jakie podzielono obszar całkowania.

Otrzymano następujące wartości błędów bezwzględnych, które zaprezentowano na poniższym wykresie.



Na podstawie wykresu błędu bezwzględnego od liczby węzłów, wyraźnie możemy zaobserwować zależność dokładności uzyskanych wyników od zastosowanej metody. Najdokładniejszą metodą jest najbardziej złożona metoda parabol, a najmniej dokładną metoda trapezów. Możemy zaobserwować, że wraz ze wzrostem liczby węzłów, a co za tym idzie ilości przedziałów błąd wyznaczenia wartości całki maleje. Dla liczby węzłów równej 1000 w przypadku metody prostokątów różnica w stosunku do wyniku dokładnego jest rzędu 10^{-14} , trapezów jest rzędu 10^{-13} , a w przypadku metody parabol 10^{-18} .

Otrzymano następujące wartości błędu względnego i zaprezentowano na wykresie poniżej.



Na podstawie uzyskanych wyników możemy zaobserwować, że metoda. Błąd względny dla metody parabol przy 1000 węzłów wynosi:

```
Błąd względny metody prostokątów wynosi: 8.373460595804934e-05
Błąd względny metody trapezów wynosi: 0.00016747106988521774
Błąd względny metody parabol wynosi: 1.0243231922552585e-08
```

Możemy zaobserwować, że metoda parabol pozwoliła na uzyskanie wyniku z błędem względnym równym jedynie $1,034 \cdot 10^{-8}$. Uzyskany wynik mógłby stanowić podstawę do wnioskowania na wpływu antybiotyku na biofilm.