

Κεφάλαιο 6

Τύποι βαθμονόμησης

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Βαθμονόμηση τυφλού

Βαθμονομείται μόνο το πρότυπο διάλυμα 1 ως τυφλό αντιδραστήριου. Η καμπύλη βαθμονόμησης που προέκυψε από την προηγούμενη μέτρηση διορθώνεται για μεταβολές της απορρόφησης ή το ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης [μέσω του υπολογισμού του S1ABS (απορρόφηση προτύπου 1)] Η μέθοδος υπολογισμού για κάθε τύπο βαθμονόμησης παρατίθεται στη συνέχεια.

Τύπος βαθμονόμησης	Υπολογισμός S1ABS
Συντελεστής K (1 σημείου)	$(A_{11} + A_{12})/2$
Γραμμική (2 σημείων)	$(A_{11} + A_{12})/2$
Logit-log 4P	$\{(A_{11} + A_{12})/2 - (A_{11'} + A_{12'})/2\} + S1ABS'$
Logit-log 5P	$(A_{11} + A_{12})/2$
Spline	$(A_{11} + A_{12})/2$
Σημείο προς σημείο	$(A_{11} + A_{12})/2$
A_{11}, A_{12}	Πρώτη και δεύτερη τιμή διχρωματικής απορρόφησης του προτύπου (1), που μετρήθηκαν αυτή τη φορά
$A_{11'}, A_{12'}$	Πρώτη και δεύτερη τιμή διχρωματικής απορρόφησης του προτύπου (1) που μετρήθηκαν κατά την προηγούμενη βαθμονόμηση
S1ABS'	Προηγούμενη τιμή S1ABS
a(l)	$l = 1$ έως N , όπου το N αντιπροσωπεύει τον αριθμό των προτύπων

Οι τύποι βαθμονόμησης που μπορούν να εφαρμοστούν παρατίθενται στη συνέχεια:

Γραμμική 1 σημείου	Γραμμική 2 σημείων	Logit-log 4P
Logit-log 5P	Spline	Σημείο προς σημείο

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Για τον καθορισμό του K κατά τη βαθμονόμηση, χρησιμοποιείται η βασική εξίσωση:

$$K = \frac{C_c - C_b}{A_c - A_b} \quad \text{ή} \quad \frac{C_c - C_b}{\Delta A_c - \Delta A_b}$$

όπου:

C_c	=	η συγκέντρωση του προτύπου ή του βαθμονομητή
A_c	=	η απορρόφηση της αντίδρασης του προτύπου
ΔA_c	=	η ανά λεπτό μεταβολή της απορρόφησης της αντίδρασης του προτύπου
K	=	συντελεστής
A_b	=	απορρόφηση του τυφλού
ΔA_b	=	η ανά λεπτό μεταβολή της απορρόφησης της αντίδρασης του τυφλού
C_b	=	συγκέντρωση του τυφλού

Όπως σημειώνεται στην προηγούμενη σελίδα, μερικές εξετάσεις χρησιμοποιούν προκαθορισμένους συντελεστές K. Οι κλίσεις τους βασίζονται σε γνωστές φυσικές ιδιότητες των υποδεικνυόμενων δειγμάτων (π.χ., NADH), όπως η μοριακή απορροφητικότητα.

Το K καθορίζεται τη στιγμή της εγκατάστασης, χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

$$K = \frac{TV \times 1000 \times [\text{υπόστρωμα}]}{SV \times b \times \epsilon \times [\text{προϊόν}]}$$

όπου:

TV	=	ολικός όγκος δείγματος και αντιδραστήριου σε ml
SV	=	ολικός όγκος δείγματος σε ml
b	=	μήκος διαδρομής φωτός σε cm
ϵ	=	μοριακή απορροφητικότητα

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Η απορρόφηση ενός αγνώστου δείγματος πολλαπλασιάζεται με ένα συντελεστή και διορθώνεται μέσω ενός τυφλού αντιδραστήριου και δίνει ως αποτέλεσμα την τιμή της συγκέντρωσης του αγνώστου. Τα επόμενα παραδείγματα χρησιμοποιούν υποθετικές τιμές απορρόφησης οι οποίες θα εμφανίζονταν στην αναφορά Calibration Monitor ή στην οθόνη Calibration.

Αναλύσεις τελικού σημείου: $C_x = K(A_x - A_b) + C_b$

Παράδειγμα 1: $C_x = 907 (0,1891 - 0,0364) + 0 = 138 \text{ mg/dl}$

Παράδειγμα 2: $C_x = 26,7 (0,3941 - 0,2642) + 0,0 = 3,5 \text{ mg/dl}$

Αναλύσεις ταχύτητας: $C_x = K(\Delta A_x - \Delta A_b) + C_b$

Παράδειγμα 3: $C_x = 5272 (0,0721 - 0,0003) + 0 = 379 \text{ U/L}$

Παράδειγμα 4: $C_x = 141,8 (0,0313 - 0,0009) + 0,0 = 4,3 \text{ mg/dl}$

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

ΚΙΝΗΤΙΚΗ Β, Τρ. λειτουργίας 1 (Εξέταση 2) (μήκη κύματος εξέτασης 2 = μήκη κύματος εξέτασης 1)

—S1—

Διχρωματική μεταβολή της απορρ./λεπτό του (S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ • mp ₂) για την εξέταση 2 - d (S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ • mp ₂) για την εξέταση 1	Μονοχρωματική απορρόφηση του S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ για την εξέταση 2
--	---

ΚΙΝΗΤΙΚΗ Β, Τρ. λειτουργίας 2 (Εξέταση 1)

—S1—

Διχρωματική μεταβολή της απορρ./λεπτό του (S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ • mp ₂) για την εξέταση 1	Μονοχρωματική απορρόφηση του S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ για την εξέταση 1
---	---

ΚΙΝΗΤΙΚΗ Β, Τρ. λειτουργίας 1 (Εξέταση 2) (μήκη κύματος εξέτ. 2 ≠ μήκη κύματος εξέτ. 1)

—S1—

Διχρωματική μεταβολή της απορρ./λεπτό του (S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ • mp ₂) για την εξέταση 2 - d (S1 + ΣR)	Μονοχρωματική απορρόφηση του S1 + ΣR στο σημείο mp ₁ για την εξέταση 2
---	---

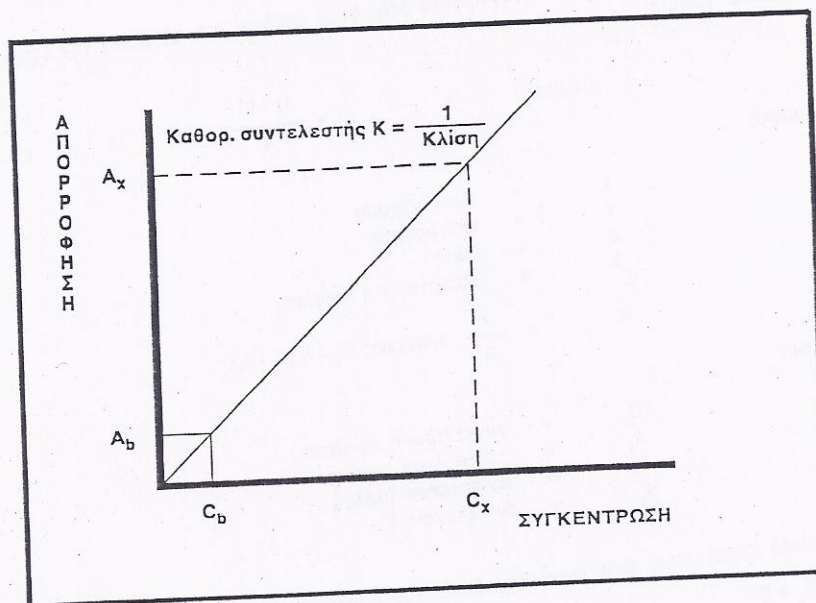
ΥΠΟΜΝΗΜΑ

S1	=	Πρότυπο 1 (τυφλό)
S2	=	Πρότυπο 2
R1	=	Αντιδραστήριο 1
R2	=	Αντιδραστήριο 2
ΣR	=	Το άθροισμα των όγκων όλων των αντιδραστηρίων που προστέθηκαν
mp ₁	=	Σημείο μέτρησης 1
mp ₂	=	Σημείο μέτρησης 2
d	=	Διόρθωση για την αραιώση
d	=	$\frac{\text{Όγκος δείγματος} + \text{όγκοι } \Sigma R \text{ στο σημείο } mp_1}{\text{Όγκος δείγματος} + \text{όγκοι } \Sigma R \text{ στο σημείο } mp_2}$

Υπόμνημα όρων βαθμονόμησης

6.2 Γραμμική βαθμονόμηση 1 σημείου

Γραφική παράσταση γραμμικής βαθμονόμησης 1 σημείου



6.2 Γραμμική βαθμονόμηση 1 σημείου

Τύποι ανάλυσης

Τύποι ανάλυσης που είναι δυνατοί με αυτόν τον τύπο βαθμονόμησης:

Ανάλυση 1 σημείου

Ανάλυση 2 σημείων

Ανάλυση 3 σημείων

Κινητική ανάλυση 2 σημείων

Ανάλυση 1 σημείου και κινητική

Κινητική ανάλυση A

Κινητική ανάλυση B

6.3 Γραμμική βαθμονόμηση 2 σημείων

Με αντικατάσταση:

$$C_x = K (A_x - A_b)$$

όταν $C_b \neq 0$:

$$b = A_b - a \cdot C_b$$

$$C_x = x$$

$$A_x = y$$

$$K = \frac{1}{a}$$

Με αντικατάσταση:

$$C_x = [(K (A_x - A_b) + C_b) \cdot IF_A] + IF_B$$

όπου:

C_x	=	συγκέντρωση αγνώστου
A_x	=	μετρηθείσα απορρόφηση αγνώστου
C_b	=	συγκέντρωση του προτύπου 1/τυφλού
K	=	συντελεστής K (αντίστροφο της κλίσης)
A_b	=	απορρόφηση τυφλού
IF_A, IF_B	=	σταθερές του αναλυτή που αντιπροσωπεύουν την κλίση και την τεταγμένη

Τύποι ανάλυσης

Τύποι ανάλυσης που είναι δυνατοί με αυτόν τον τύπο βαθμονόμησης:

Ανάλυση 1 σημείου

Ανάλυση 2 σημείων

Ανάλυση 3 σημείων

Κινητική ανάλυση 2 σημείων

Ανάλυση 1 σημείου και κινητική

Κινητική ανάλυση A

Κινητική ανάλυση B

Ανάλυση 2 σημείων

6.4 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 4P

Υπολογισμός μη γραμμικής βαθμονόμησης Logit-Log 4P

Το μαθηματικό μοντέλο για τον κατά προσέγγιση υπολογισμό της καμπύλης μη γραμμικής βαθμονόμησης logit-log 4P είναι το εξής:

$$A_N = B + \frac{a}{1 + bC^c}$$

όπου:

- A_N = μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμού μεταβολής απορρόφησης του προτύπου N
- B = παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης (προβλεπόμενη απορρόφηση ή ρυθμός απορρόφησης για άπειρη συγκέντρωση)
- a = παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης, προβλεπόμενο εύρος (span) της απορρόφησης ή του ρυθμού απορρόφησης μεταξύ μηδενικής και άπειρης συγκέντρωσης ($A(0) - A(\text{inf})$)
- b = παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης, $b = 1/ED_{50}$, όπου ED_{50} είναι εκείνη η συγκέντρωση όπου η απορρόφηση ή ο ρυθμός απορρόφησης είναι το 1/2 της τιμής span $A_{ED50} = (A(\text{inf}) - A(0))/2 + A(0)$
- c = κλίση logit
- C = συγκέντρωση του προτύπου 1

Η εξίσωση για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του αγνώστου δείγματος είναι η εξής:

$$C = \left[\frac{1}{b} \left\{ \frac{a - (A_x - B)}{A_x - B} \right\} \right]^{\frac{1}{c}}$$

$$C_x = (C + C_i) \cdot IF_A + IF_B$$

$$A_x = B + \frac{a}{1 + bC^c}$$

όπου:

- C_x = συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας του δείγματος
- C_i = συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας του προτύπου 1/τυφλού
- C = $C_x - C_i$
- IF_A, IF_B = σταθερές του αναλυτή που αντιπροσωπεύουν την κλίση και την τεταγμένη
- a, b, c = παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης
- A_x = τιμή απορρόφησης δείγματος
- B = παράμετρος καμπύλης αντίδρασης (μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμού μεταβολής απορρόφησης του προτύπου 1/τυφλού)

6.5 Χρήση της στάθμισης στη μη γραμμική βαθμονόμηση

Εισαγωγή

Στα μη γραμμικά μοντέλα βαθμονόμησης logit-log 3P και 4P, μπορεί να εφαρμοστεί μια συνάρτηση στάθμισης κατά τη διαδικασία προσαρμογής της καμπύλης, η οποία ευνοεί εκείνα τα σημεία του βαθμονομητή που έχουν χαμηλότερη απορρόφηση (ή ρυθμό μεταβολής απορρόφησης). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μια πιο ακριβή προσαρμογή της καμπύλης σε εκείνο το συγκεκριμένο εύρος συγκέντρωσης.

Υπολογισμός χωρίς στάθμιση

Όταν δεν χρησιμοποιείται στάθμιση (εισαγωγή 0 στο πεδίο παραμέτρου 22, Calib. Type (Wght) [(Τύπος Βαθμ. (Σταθμ.)], στην οθόνη Test Parameters), η προσαρμογή της καμπύλης βελτιστοποιείται με την τροποποίηση των παραμέτρων της συνάρτησης logit-log ώστε να ελαχιστοποιηθεί το άθροισμα των υπολοίπων. Τα υπόλοιπα είναι τα τετράγωνα των διαφορών μεταξύ των πραγματικών τιμών απορρόφησης για κάθε βαθμονομητή και των τιμών απορρόφησης που υπολογίζονται από τη συνάρτηση logit-log. Δηλαδή:

$$\sum [A_i - f(C_i)]^2 \cdot \min$$

όπου:

- | | | |
|----------|---|--|
| A_i | = | η πραγματική απορρόφηση (ή ο ρυθμός μεταβολής απορρόφησης) του βαθμονομητή i |
| $f(C_i)$ | = | η απορρόφηση (ή ο ρυθμός μεταβολής απορρόφησης) του βαθμονομητή i , όπως υπολογίστηκε μέσω της συνάρτησης logit-log από τη συγκέντρωση (C_i) |
| n | = | αριθμός των βαθμονομητών που χρησιμοποιήθηκαν |

Υπολογισμός με στάθμιση

Όταν χρησιμοποιείται στάθμιση [εισαγωγή του 1 ή 2 στο πεδίο παραμέτρου 22, Calib. Type (Wght), στην οθόνη Test Parameters], κάθε ένα από τα υπόλοιπα πολλαπλασιάζεται με έναν συντελεστή στάθμισης κατά τη διαδικασία προσαρμογής της καμπύλης, ώστε:

$$\sum w_i [A_i - f(C_i)]^2 \cdot \min$$

όπου: w_i = ο συντελεστής στάθμισης για το σημείο του βαθμονομητή i
και όλα τα άλλα σύμβολα είναι τα ίδια με εκείνα που περιγράφηκαν παραπάνω.

6.6 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 5P

Επιλογή μη γραμμικής βαθμονόμησης Logit-log 5P

Η μη γραμμική μέθοδος, logit-log 5P, εφαρμόζεται σε μια καμπύλη βαθμονόμησης στην οποία η βαθμονόμηση αυξάνεται ή μειώνεται μη γραμμικά όσο αυξάνει η συγκέντρωση. Στο παρακάτω παράδειγμα, η απορρόφηση αυξάνεται καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση.

Στοιχεία που εισάγονται στην οθόνη Test Parameters

Αριθμός παραμέτρου

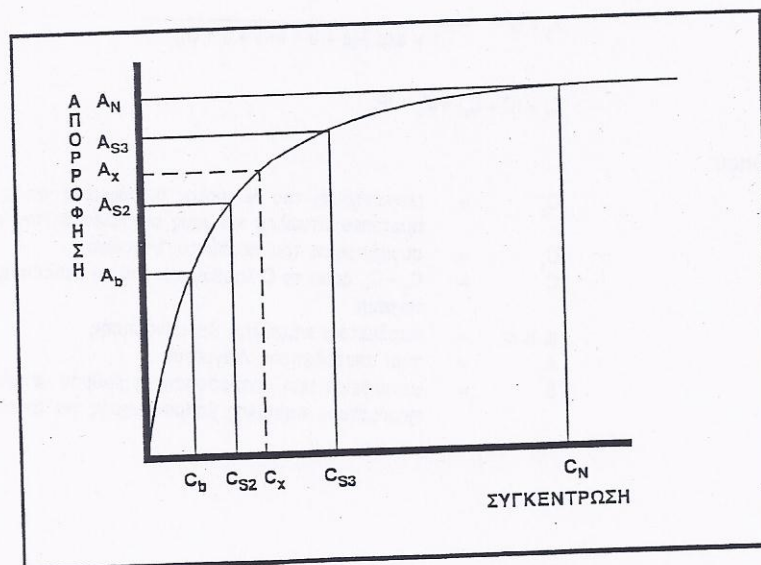
21. Calib. Type (Type)
22. Calib. Type (Wght)
23. Calib. Conc. 1
24. Calib. Pos. 1
25. Calib. Conc. 2
26. Calib. Pos. 2
27. Calib. Conc. 3
28. Calib. Pos. 3
29. Calib. Conc. 4
30. Calib. Pos. 4
31. Calib. Conc. 5
32. Calib. Pos. 5
33. Calib. Conc. 6
34. Calib. Pos. 6

Εισαγωγή στοιχείων παραμέτρων

Logit-log 5P

- εισαγάγετε τη σταθμισμένη τιμή
συγκέντρωση προτύπου 1
θέση προτύπου 1
συγκέντρωση προτύπου 2
θέση προτύπου 2
συγκέντρωση προτύπου 3
θέση προτύπου 3
συγκέντρωση προτύπου 4
θέση προτύπου 4
συγκέντρωση προτύπου 5
θέση προτύπου 5
συγκέντρωση προτύπου 6
θέση προτύπου 6

Γραφική παράσταση μη γραμμικής βαθμονόμησης Logit-Log 5P



6.6 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 5P

Οι παράμετροι στο παράθυρο Calibration Information (Πληροφορίες βαθμονόμησης) αντιστοιχούν ως εξής:

B	=	Απορρόφηση S1
K	=	K _c
a	=	A
b	=	B
c	=	C

όπου:

a	=	απορρόφηση ή ρυθμός μεταβολής απορρόφησης του δείγματος
K	=	K στο παράθυρο Calibration Information (συντελεστής K)
a	=	A στο παράθυρο Calibration Information
b	=	B στο παράθυρο Calibration Information
c	=	C στο παράθυρο Calibration Information

Χρήση των συντελεστών στάθμισης

Ο αναλυτής υποστηρίζει τη μη χρήση στάθμισης ή την επιλογή ενός από τους δύο συντελεστές στάθμισης. Οι συντελεστές στάθμισης 1 και 2 χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της παραμέτρου βαθμονόμησης στην εξίσωση:

$$S \Delta_i^2 = S \frac{1}{\Delta_i} \left\{ A_i - \left(\frac{a}{1 + bC^c} + B \right) \right\}^2$$

όπου:

Δ_1	=	A_1 για τον συντελεστή στάθμισης 1
Δ_i	=	A_i^2 για τον συντελεστή στάθμισης 2
A_i	=	μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμού μεταβολής απορρόφησης του προτύπου.

Η εφαρμογή αυτών των συντελεστών στάθμισης μπορεί να είναι χρήσιμη για αναλυόμενες ουσίες με όριο διαχωρισμού φυσιολογικών και παθολογικών τιμών στο κατώτερο εύρος συγκέντρωσης. Ο αλγόριθμος θα δώσει μια συνάρτηση βαθμονόμησης η οποία θα ακολουθεί επακριβώς τις μετρήσεις στο κατώτερο εύρος συγκέντρωσης.

Αυτό επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας τον συντελεστή στάθμισης 1 και ακόμα περισσότερο χρησιμοποιώντας τον συντελεστή στάθμισης 2. Αυτοί οι συντελεστές στάθμισης μπορούν να καθοριστούν για τον υπολογισμό των μη γραμμικών βαθμονομήσεων logit-log 3P και logit-log 4P.

6.7 Μη γραμμική βαθμονόμηση Spline

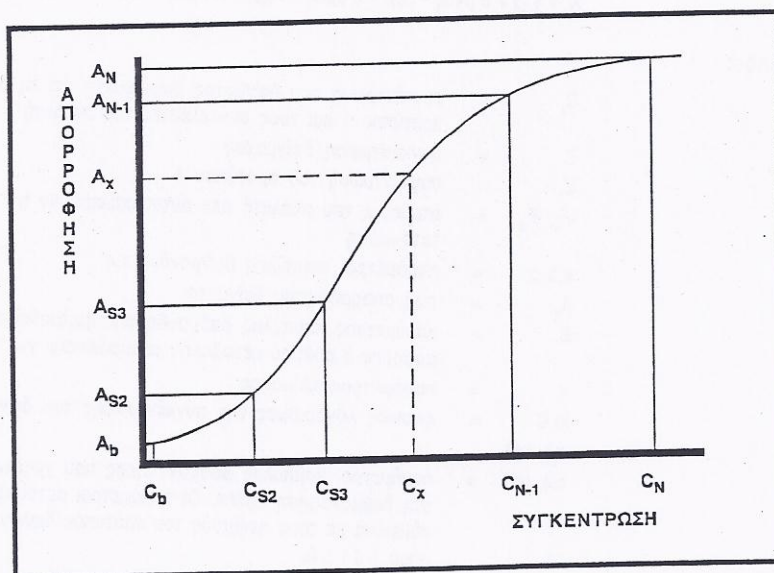
Επιλογή μη γραμμικής βαθμονόμησης Spline

Η μη γραμμική μέθοδος Spline εφαρμόζεται σε μια καμπύλη βαθμονόμησης στην οποία η απορρόφηση αυξάνει όσο αυξάνει η συγκέντρωση. Το εύρος μεταξύ των τιμών μέτρησης τυπικών δειγμάτων x και $x - 1$ υπολογίζεται κατά προσέγγιση και σχεδιάζεται μια καμπύλη.

Στοιχεία που εισάγονται στην οθόνη Test Parameters

Αριθμός παραμέτρου	Εισαγωγή στοιχείων παραμέτρων
21. Calib. Type (Type)	Spline
22. Calib. Type (Wght)	εισαγάγετε τη σταθμισμένη τιμή
23. Calib. Conc. 1	συγκέντρωση προτύπου 1
24. Calib. Pos. 1	θέση προτύπου 1
25. Calib. Conc. 2	συγκέντρωση προτύπου 2
26. Calib. Pos. 2	θέση προτύπου 2
27. Calib. Conc. 3	συγκέντρωση προτύπου 3
28. Calib. Pos. 3	θέση προτύπου 3
29. Calib. Conc. 4	συγκέντρωση προτύπου 4
30. Calib. Pos. 4	θέση προτύπου 4
31. Calib. Conc. 5	συγκέντρωση προτύπου 5
32. Calib. Pos. 5	θέση προτύπου 5
33. Calib. Conc. 6	συγκέντρωση προτύπου 6
34. Calib. Pos. 6	θέση προτύπου 6

Γραφική παράσταση μη γραμμικής βαθμονόμησης Spline



6.7 Μη γραμμική βαθμονόμηση Spline

Τύποι ανάλυσης

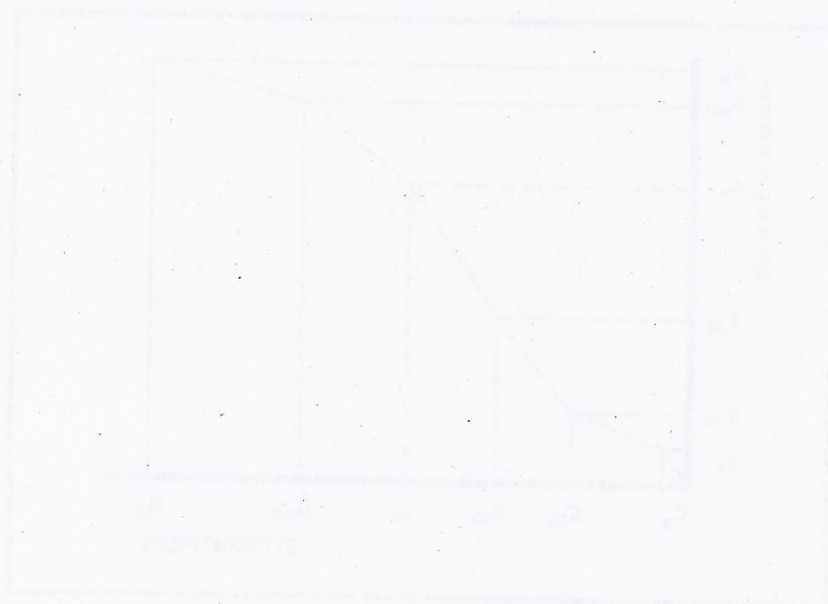
Η μη γραμμική βαθμονόμηση spline μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τους ακόλουθους τύπους ανάλυσης:

Ανάλυση 1 σημείου

Ανάλυση 2 σημείων

Κινητική ανάλυση 2 σημείων

Κινητική ανάλυση A



6.8 Μη γραμμική βαθμονόμηση σημείο προς σημείο

Υπολογισμός μη γραμμικής βαθμονόμησης σημείο προς σημείο

Το μαθηματικό μοντέλο για τον κατά προσέγγιση υπολογισμό της καμπύλης μη γραμμικής βαθμονόμησης line graph είναι το εξής:

$$K = (C_2 - C_1) / (STD(2) - STD(1))$$

όπου:

STD1	=	μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμού μεταβολής απορρόφησης του προτύπου 1
STD2	=	μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμού μεταβολής απορρόφησης του προτύπου 2
C ₁	=	συγκέντρωση του προτύπου 1 (STD1)
C ₂	=	συγκέντρωση του προτύπου 2 (STD2)

Η εξίσωση για τη συγκέντρωση του αγνώστου δείγματος είναι η εξής:

$$C_x = [K_N(A - S_{NABS}) + C_N] \cdot IF_A + IF_B$$

όπου:

C _x	=	συγκέντρωση δείγματος
C _N	=	συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος (N)
K _N	=	συντελεστής K
IF _A , IF _B	=	σταθερές του αναλυτή που αντιπροσωπεύουν την κλίση και την τεταγμένη
A	=	τιμή απορρόφησης δείγματος
S _{NABS}	=	υπολογισμένη τιμή απορρόφησης ή διακύμανσης της απορρόφησης του πρότυπου διαλύματος (N)

Τύποι ανάλυσης

Η μη γραμμική βαθμονόμηση line-graph μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τους ακόλουθους τύπους ανάλυσης:

Ανάλυση 1 σημείου

Ανάλυση 2 σημείων

Ανάλυση 3 σημείων

Ανάλυση 1 σημείου και κινητική

Κινητική ανάλυση 2 σημείων

Κινητική ανάλυση A

Κινητική ανάλυση B

6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Υπολογισμός κλίσης (Slope)

Η κλίση υπολογίζεται σε mV/δεκάδα από τα υδατικά πρότυπα χαμηλής και υψηλής συγκέντρωσης. Ιδανικά, η κλίση για ένα ιόν με ένα φορτίο είναι 61,6 mV/δεκάδα της συγκέντρωσης του ιόντος στους 37 °C. Εξαιτίας διαφόρων παραγόντων, όπως π.χ. η κατάσταση των ηλεκτροδίων, η μετρούμενη κλίση πιθανόν να αποκλίνει από αυτή την ιδανική τιμή κλίσης. Συνεπώς, η κλίση για την υπομονάδα ISE θα πρέπει να εμπίπτει στο εξής εύρος τιμών:

	Βέλτιστη κλίση	Εύρος προετοιμασίας	Εύρος κλίσης
Na ⁺	50 έως 68 mV/δεκάδα	45 έως 49,9 mV/δεκάδα	< 45
K ⁺	50 έως 68 mV/δεκάδα	45 έως 49,9 mV/δεκάδα	< 45
Cl ⁻	-40 έως -68 mV/δεκάδα	-35 έως -39,9 mV/δεκάδα	> -35

Η κλίση υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$S = \frac{E_H - E_L}{\log \frac{C_H}{C_L}} = \text{mV/δεκάδα}$$

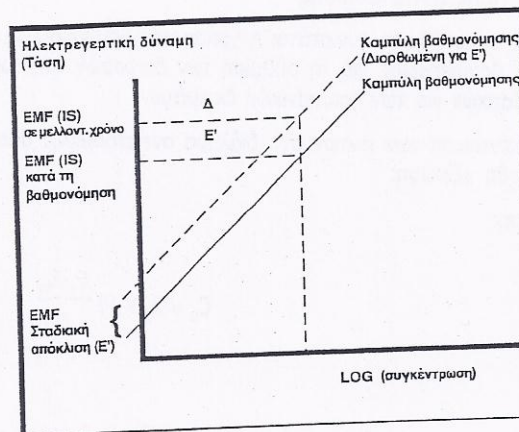
όπου:

S	=	κλίση
E _H	=	τάση προτύπου υψηλής συγκέντρωσης
E _L	=	τάση προτύπου χαμηλής συγκέντρωσης
C _H	=	συγκέντρωση προτύπου υψηλής συγκέντρωσης
C _L	=	συγκέντρωση προτύπου χαμηλής συγκέντρωσης

6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Ρύθμιση ενός σημείου

Ένα εσωτερικό πρότυπο (IS), το οποίο ονομάζεται εσωτερικό διάλυμα αναφοράς (Internal Reference Solution), μετράται ως δείγμα στη διάρκεια της βαθμονόμησης ρουτίνας και πριν από κάθε δείγμα ασθενούς. Οι μετρήσεις αυτές χρησιμοποιούνται για τη διόρθωση της σταδιακής απόκλισης λόγω δυναμικού που αναπτύσσεται στα σημεία επαφής της κατάστασης ηλεκτροδίων κ.λπ., μεταξύ δειγμάτων, καθώς και για να παρέχει μια περιοδική ρύθμιση βαθμονόμησης ενός σημείου, όπως φαίνεται στη συνέχεια:



6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Η εξίσωση για τον υπολογισμό των τιμών αντιστάθμισης είναι:

$$\text{Τιμή αντιστάθμισης} = \text{καθορισμένη τιμή (Βαθμονομητής)} - \text{υπολογισμένη τιμή (Βαθμονομητής)}$$

(Η τιμή αυτή είναι το C_x στην παραπάνω εξίσωση.)

Η τιμή αντιστάθμισης (Compensated Value) προβάλλεται στο παράθυρο Calibration/Status/ISE Calibration Information. Η τιμή αυτή ενημερώνεται αυτόματα από τον αναλυτή μετά από μια επιτυχημένη βαθμονόμηση. Εάν κατά τη βαθμονόμηση η ποσοστιαία διαφορά μεταξύ των τρεχόντων και των προηγούμενων διαλυμάτων αντιστάθμισης είναι μεγαλύτερη από το όριο αντιστάθμισης (Compensated Limit) που καθορίστηκε στην οθόνη Parameters/ISE Test, εμφανίζεται ένας συναγερμός.

Φυσιγγιο/ηλεκτρόδιο αναφοράς

Ταυτόχρονα με την ανάλυση κάθε δείγματος μετράται και ένα διάλυμα KCl 1N. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ένα φυσιγγιο/ηλεκτρόδιο αναφοράς. Η λειτουργία αυτή χρησιμεύει ως σημείο αναφοράς για όλες τις μετρήσεις και αντισταθμίζει τυχόν ηλεκτρονικές διακυμάνσεις στο σύστημα. Όλες οι άλλες τάσεις αναφέρονται χρησιμοποιώντας ως μηδενικό σημείο την τάση του φυσιγγίου/ηλεκτροδίου αναφοράς, δηλαδή η τάση του φυσιγγίου/ηλεκτροδίου αναφοράς αφαιρείται από όλες τις άλλες μετρούμενες τιμές τάσης.

Εξίσωση του Nernst

Η εξίσωση του Nernst χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης ενός συγκεκριμένου ιόντος στο διάλυμα, ως εξής:

Εξίσωση 1:

$$E = E_{is} + \frac{RT}{nF} \times \ln \frac{I \times C_i}{I \times C_r}$$

όπου:

- E = ηλεκτρεγερτική δύναμη (EMF) (τάση) συγκεκριμένου ηλεκτροδίου (Na^+ , K^+ , Cl^-)
- E_{is} = EMF του εσωτερικού προτύπου
- R = σταθερά αερίου
- T = θερμοκρασία
- n = φορτίο του ιόντος

6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Υπολογισμός των συγκεντρώσεων αγνώστου δείγματος

Η συγκέντρωση του νατρίου, καλίου και χλωρίου στα άγνωστα δείγματα υπολογίζεται μέσω προσδιορισμού της ηλεκτρεγερτικής δύναμης (τάσης) του συγκεκριμένου ηλεκτροδίου, ενώ τα αποτελέσματα υπολογίζονται σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

Εξίσωση:

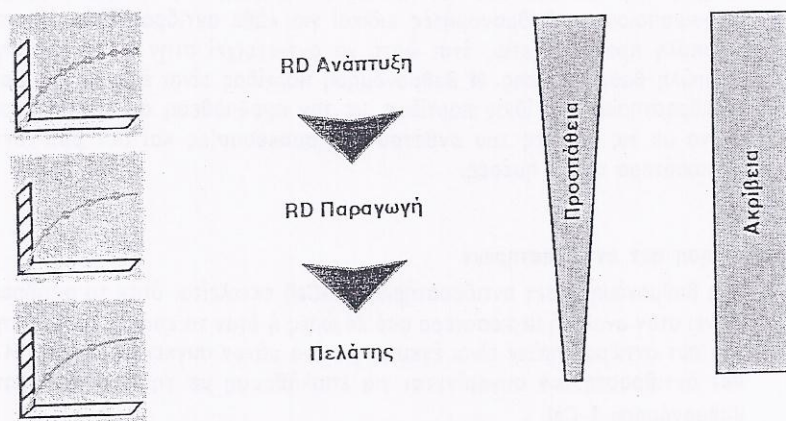
$$C_i = \text{Τιμή αντιστάθμισης} + \frac{E_i - E_{is}}{C_s \times 10^S}$$

όπου:

C_i	=	συγκέντρωση του συγκεκριμένου ιόντος στο μίγμα εξέτασης αγνώστου δείγματος/αραιωτικού διαλύματος
Τιμή αντι- στάθμισης	=	συντελεστής αντιστάθμισης (συγκέντρωση αντιστάθμισης)
C_s	=	συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου, όπως καθορίστηκε κατά την βαθμονόμηση
E_i	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του αγνώστου δείγματος για το συγκεκριμένο ιόν
E_{is}	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του εσωτερικού προτύπου για το συγκεκριμένο ιόν
S	=	κλίση

6. Βαθμονόμηση

Πρότυπη βαθμονόμηση



Η έννοια της βαθμονόμησης στον αναλυτή Elecsys 2010

Στη Roche Diagnostics δημιουργείται μια πρότυπη καμπύλη αναφοράς με χρήση κιτ πρό-τυπων αντιδραστηρίων και πιστοποιημένων προτύπων υλικών αναφοράς [π.χ. υλικά αναφοράς της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO)]. Η καμπύλη χρησιμοποιεί από 10 έως 12 σημεία (n=10 έως 12). Η πρότυπη καμπύλη αναφοράς αποτελεί τη βάση για την παραγωγή των πρό-τυπων βαθμονομητών.

Στη Roche Diagnostics δημιουργείται μία πρότυπη καμπύλη ειδική για κάθε παρτίδα (n=5 ή 6), με χρήση κιτ αντιδραστηρίων εξετάσεων και πρότυπων βαθμονομητών ειδικών για κάθε παρτίδα. Η μορφή της ειδικής, για κάθε παρτίδα, πρότυπης καμπύλης ακολουθεί μια συνάρτηση Rodbard τεσσάρων παραμέτρων. Τα δεδομένα που καθορίζουν αυτήν την καμπύλη βρίσκονται αποθηκευμένα στον ειδικό για κάθε παρτίδα αντιδραστηρίων γραμμικό κώδικα. Οι καθορισμένες τιμές του ειδικού για κάθε παρτίδα βαθμονομητή (δηλαδή οι καθορισμένες τιμές CalSet) αναγνωρίζονται από την ειδική για κάθε παρτίδα πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης και βρίσκονται κωδικοποιημένες στην κάρτα γραμμικού κώδικα βαθμονομητή CalSet.

Στο εργαστήριο του πελάτη, τα αποτελέσματα της βαθμονόμησης δυο βαθμονομητών οι οποίοι μετρήθηκαν στις κανονικές συνθήκες του εργαστηρίου συνδυάζονται με μαθημα-τικούς τύπους με τα κωδικοποιημένα στοιχεία του γραμμικού κώδικα δυο διαστάσεων. Από το συνδυασμό αυτόν, ο αναλυτής Elecsys 2010 προσδιορίζει τη βαθμονόμηση μιας παρτίδας αντιδραστηρίου ή τη βαθμονόμηση ενός σετ αντιδραστηρίων, από την οποία υπολογίζεται με αξιοπιστία η συγκέντρωση των δειγμάτων που αναλύθηκαν.

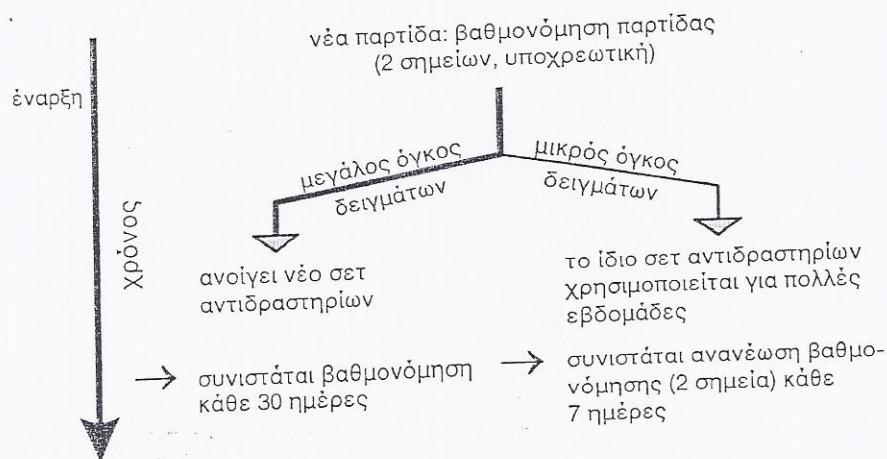
Σταθερότητα βαθμονόμησης

Η σταθερότητα της βαθμονόμησης καθορίζεται από δύο παράγοντες:

- τη μακροχρόνια σταθερότητα του αναλυτή
- την ηλικία του αντιδραστηρίου

Για πολλές εξετάσεις, ένα σετ αντιδραστηρίων θα χρησιμοποιηθεί εντός επτά ημερών. Στην περίπτωση αυτή, δεν είναι απαραίτητη η ανανέωση της βαθμονόμησης για το νέο σετ αντιδραστηρίων. Με τον τρόπο αυτόν, η βαθμονόμηση της παρτίδας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για όλα τα νέα σετ αντιδραστηρίων ανάλογα με το συνιστώμενο χρονικό διάστημα που αναφέρεται στο ένθετο της συσκευασίας (ανατρέξτε στην ενότητα «Συχνότητα βαθμονόμησης»). Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα συνιστάται η εκτέλεση μιας νέας βαθμονόμησης παρτίδας.

Εάν το αντιδραστήριο παραμένει στον αναλυτή περισσότερες από επτά ημέρες, συνιστάται η ανανέωση της βαθμονόμησης, η οποία μπορεί να επαναλαμβάνεται όπως απαιτείται, έως ότου παρέλθει το χρονικό διάστημα που μπορεί να παραμένει σταθερό το ανοιχτό αντιδραστήριο στον αναλυτή (δηλαδή δύο μήνες).



Ροή εργασίας βαθμονόμησης στον αναλυτή Elecsys 2010

6.2 Βαθμονόμηση αναλύσεων ποσοτικού προσδιορισμού

Τα παρακάτω αποτελούν περιγραφή των διαφορετικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται από τον αναλυτή Elecsys 2010 για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων. Για τον υπολογισμό αναλύσεων ποσοτικού προσδιορισμού, ο αναλυτής 2010 χρησιμοποιεί τις εξής τρεις συναρτήσεις βαθμονόμησης για να μετατρέψει τα σήματα που μετρήθηκαν σε συγκεντρώσεις.

- συνάρτηση Rodbard
- γραμμική συνάρτηση βαθμονόμησης
- γραμμική αντίστροφη συνάρτηση βαθμονόμησης

Η συνάρτηση βαθμονόμησης που χρησιμοποιείται από το σύστημα βρίσκεται κωδικοποιημένη στο γραμμικό κώδικα δύο διαστάσεων του αντίστοιχου σετ αντιδραστηρίων. Οι υπολογισμοί εκτελούνται αυτόματα από τον αναλυτή, συμπεριλαμβανομένης της διόρθωσης για αραιωμένα από τον αναλυτή δείγματα.

Συνάρτηση Rodbard

Η μετατροπή του μετρηθέντος σήματος σε συγκέντρωση, με χρήση της συνάρτησης Rodbard γίνεται ως εξής:

$$y = \frac{a - d}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c d}$$

x = Συγκέντρωση δείγματος
a, b, c, d = Παράμετροι συνάρτησης Rodbard
y = Σήμα

Οι παράμετροι b και c ορίζουν τη μορφή της καμπύλης και οι παράμετροι a και d ορίζουν τη θέση της καμπύλης.

Υπό τις ελεγχόμενες συνθήκες αυτοματισμού του αναλυτή, η μορφή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι πολύ σταθερή και επομένως είναι δυνατό να βαθμονομηθεί αυτή η μη γραμμική συνάρτηση με χρήση δύο μόνο βαθμονομητών και των πληροφοριών που παρέχονται από τις παραμέτρους μορφής της καμπύλης b και c. Οι παράμετροι της θέσης της καμπύλης a και d υπολογίζονται με κάθε βαθμονόμηση. Αυτού του είδους η βαθμονόμηση ονομάζεται βαθμονόμηση 2 σημείων.

Ο παρακάτω αντίστροφος τύπος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης άγνωστης ουσίας με βάση το σήμα της.

$$x = b \left(\frac{a - y}{y - d} \right)^{\frac{1}{c}}$$

y = Σήμα
a, b, c, d = Παράμετροι συνάρτησης Rodbard
x = Συγκέντρωση δείγματος

6.3 Βαθμονόμηση αναλύσεων ποιοτικού προσδιορισμού

Για τον προσδιορισμό των αποτελεσμάτων δειγμάτων ασθενών ως θετικά, αρνητικά ή οριακά, υπολογίζεται η λεγόμενη τιμή "κατωφλίου", S_{Cutoff} .

Για τη βαθμονόμηση χρησιμοποιούνται δύο βαθμονομητές, ο θετικός (REAC) και ο αρνητικός (N-REAC). Αυτοί οι δύο βαθμονομητές παράγουν δραστικά σήματα, S_{POS} και S_{NEG} , από τα οποία υπολογίζεται η τιμή κατωφλίου ως εξής:

$$S_{Cutoff} = (A \cdot S_{NEG}) + (B \cdot S_{POS}) + C$$

S_{Cutoff} = Τιμή κατωφλίου

S_{POS} = Ενεργό σήμα του θετικού βαθμονομητή

S_{NEG} = Ενεργό σήμα του αρνητικού βαθμονομητή

A, B, C = Παράμετροι κατωφλίου, ειδικές για κάθε ανάλυση (σύμφωνα με το γραμμικό κώδικα δύο διαστάσεων)

Με τη χρήση των δύο βαθμονομητών υπολογίζονται δύο δείκτες κατωφλίου, $Cutoff_{IndexPOS}$ και $Cutoff_{IndexNEG}$, ως εξής.

$$Cutoff_{IndexNEG} = \frac{S_{NEG}}{S_{Cutoff}}$$

$Cutoff_{IndexPOS}$ = Δείκτης κατωφλίου του θετικού βαθμονομητή

$Cutoff_{IndexNEG}$ = Δείκτης κατωφλίου του αρνητικού βαθμονομητή

$$Cutoff_{IndexPOS} = \frac{S_{POS}}{S_{Cutoff}}$$

S_{POS} = Ενεργό σήμα του θετικού βαθμονομητή

S_{NEG} = Ενεργό σήμα του αρνητικού βαθμονομητή

S_{Cutoff} = Τιμή κατωφλίου του βαθμονομητή

Και οι δύο δείκτες κατωφλίου χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της ποιότητας της βαθμονόμησης.

Η κατάσταση της βαθμονόμησης διαμορφώνεται από τις παρακάτω παραμέτρους:

- Τιμή κατωφλίου S_{Cutoff}
- Δείκτες κατωφλίου και των δύο βαθμονομητών, REAC και N-REAC.

Οι βαθμονομήσεις των αναλύσεων ποιοτικού προσδιορισμού εκτελούνται πάντα με τη χρήση και θετικού και αρνητικού βαθμονομητή.

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Μέθοδοι βαθμονόμησης

Στον αναλυτή αυτόν χρησιμοποιούνται οι εξής μέθοδοι βαθμονόμησης:

- Γραμμική βαθμονόμηση
 - γραμμική βαθμονόμηση 1 σημείου (1-point linear)
 - γραμμική βαθμονόμηση 2 σημείων (2-point linear)
- Μη γραμμική βαθμονόμηση
 - Βαθμονόμηση Logit-Log 4P
 - Βαθμονόμηση Logit-Log 5P
 - Βαθμονόμηση Spline
 - Μη γραμμική βαθμονόμηση σημείο προς σημείο (nonlinear point to point)

Οι μέθοδοι γραμμικής βαθμονόμησης χρησιμοποιούνται για εξετάσεις όπου το διάγραμμα των τιμών της απορρόφησης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σχηματίζει μια γραμμική καμπύλη.

Η μη γραμμική βαθμονόμηση χρησιμοποιείται για τις εξετάσεις εκείνες των οποίων οι τιμές απορρόφησης της ανάλυσης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σχηματίζουν μια μη γραμμική, αλλά αναπαράγωγιμη γραφική παράσταση. Για τη βαθμονόμηση απαιτούνται από τρεις τουλάχιστον έως και έξι βαθμονομητές.

Για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων αγνώστων δειγμάτων χρησιμοποιείται ένας συντελεστής K. Σε εξέταση που απαιτεί περισσότερα από ένα τυφλά στη διάρκεια της βαθμονόμησης, ο συντελεστής K υπολογίζεται μέσω των τιμών απορρόφησης του τυφλού και των άλλων πρότυπων διαλυμάτων που μετρήθηκαν. Ένας σταθερός συντελεστής K (ο οποίος έχει καθοριστεί κατά την εγκατάσταση και είναι μοναδικός για κάθε αναλυτή) χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό όλων των αποτελεσμάτων που χρησιμοποιούν μόνον ένα βαθμονομητή τυφλού. Ο συντελεστής K μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα δείγματα που εξετάζονται, χρησιμοποιώντας το ίδιο αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε και στη βαθμονόμηση (εντός του συνιστώμενου διαστήματος βαθμονόμησης).

Μέθοδος βαθμονόμησης

Η μέθοδος βαθμονόμησης καθορίζεται στην οθόνη Test Parameter. Χρησιμοποιήστε το πεδίο παραμέτρου 21 για να εισαγάγετε τη μέθοδο βαθμονόμησης. Επιλέξτε τη μέθοδο βαθμονόμησης από τον κατάλογο: Linear, Logit-Log 4P, Logit-Log 5P, Spline, και Point to Point.

Στάθμιση

Χρησιμοποιήστε το πεδίο παραμέτρου 22 για να καθορίσετε τον παράγοντα στάθμισης (0, 1 ή 2) που θα εφαρμοστεί στο πρότυπο διάλυμα. Εάν οριστεί το μηδέν, δεν θα χρησιμοποιηθεί στάθμιση κατά τη βαθμονόμηση.

Τύπος βαθμονόμησης

Για τις χημικές αναλύσεις της Roche Diagnostics, μπορείτε να επιλέξετε μεταξύ δύο διαφορετικών τύπων βαθμονόμησης. Σύμφωνα με τον αριθμό των σημείων βαθμονόμησης που χρησιμοποιούνται, είναι διαθέσιμες οι εξής επιλογές:

- Βαθμονόμηση τυφλού (Blank): Βαθμονομείται μόνο το πρότυπο διάλυμα 1/τυφλό.
- Βαθμονόμηση σε όλα τα σημεία (Full): Βαθμονομούνται όλα τα πρότυπα διαλύματα (περισσότερα από 2) που καθορίστηκαν στις παραμέτρους.

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Βαθμονόμηση σε όλα τα σημεία

Οι τύποι βαθμονόμησης που μπορούν να εφαρμοστούν παρατίθενται στη συνέχεια:

Γραμμική	Logit-log 4P*
Συντελεστής K	Logit-log 5P
Spline	Μη γραμμική σημείο προς σημείο

*εκτός από τις περιπτώσεις όπου το σημείο βαθμονόμησης είναι το 2

Όπως εξηγείται στα παραδείγματα του Κεφαλαίου 5 του οδηγού αυτού, Τύποι ανάλυσης, οι συγκεντρώσεις της αναλυόμενης ουσίας σε άγνωστα δείγματα καθορίζονται με βάση τις παρακάτω εξισώσεις:

- αναλύσεις τελικού σημείου $C_x = K(A_x - A_b) + C_b$
- αναλύσεις κινητικών αντιδράσεων $C_x = K(\Delta A_x - \Delta A_b) + C_b$

όπου:

C_x	=	συγκέντρωση του αγνώστου
K	=	συντελεστής
A_x	=	απορρόφηση του αγνώστου δείγματος
ΔA_x	=	ανά λεπτό μεταβολή της απορρόφησης του αγνώστου
A_b	=	απορρόφηση προτύπου 1/τυφλού
ΔA_b	=	ανά λεπτό μεταβολή της απορρόφησης προτύπου 1/τυφλού
C_b	=	συγκέντρωση του προτύπου 1/τυφλού

Στα παραπάνω:

- η απορρόφηση μετράται από το φωτόμετρο
- η τιμή C_b προγραμματίζεται ως μέρος των συγκεντρώσεων του βαθμονομητή
- η τιμή C_x είναι αυτή που προσδιορίζεται
- το K είναι ένας συντελεστής, ο οποίος μπορεί να προκαθορισθεί για κάποιες εξετάσεις, ενώ για άλλες υπολογίζεται κατά τη βαθμονόμηση. Το K είναι το αντίστροφο της κλίσης και αναφέρεται ως συντελεστής K.

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Χρήση τιμών βαθμονόμησης

Η αναφορά Calibration Monitor (Παρακολούθηση βαθμονόμησης) περιγράφεται με λεπτομέρεια στο Κεφάλαιο 7 του Οδηγού Λογισμικού. Στη συνέχεια δίνεται ένα παράδειγμα της αναφοράς αυτής.

Calibration Monitor		
97/01/17 10:08		
Test	Na	
IS.EMF	-43.0	
S1 EMF	-45.5	
S2 EMF	-37.8	
S3 EMF	-41.7	
SLOPE	61.6	
IS.C.	131.6	
S3 C.	137.9	
C.VAL.	-6.7	
Test	K	
IS.EMF	-46.0	
S1 EMF	-57.6	
S2 EMF	-35.8	
S3 EMF	-43.5	
SLOPE	59.2	
IS.C.	4.72	
S3 C.	5.21	
C.VAL.	-0.29	
Test	Cl	
IS.EMF	137.0	
S1 EMF	141.7	
S2 EMF	134.3	
S3 EMF	136.2	
SLOPE	-42.0	
IS.C.	98.4	
S3 C.	107.9	
C.VAL.	-6.1	
1 BICAR		
S1	-113	18575
	-114	18434
S2	-699	17057
	-689	17228
3 BUN		
S1	-19	13207
	-11	13166
S2	-656	13027
	-657	13021

Αναφορά Calibration Monitor

Οι τιμές απορρόφησης στο τμήμα των φωτομετρικών μετρήσεων της αναφοράς Calibration Monitor υπολογίζονται διαφορετικά, ανάλογα με τον τύπο ανάλυσης που χρησιμοποιείται. Το υπόλοιπο της ενότητας αυτής περιγράφει τους υπολογισμούς διχρωματικής και μονοχρωματικής απορρόφησης για κάθε τύπο ανάλυσης.

Μετά από μια επιτυχημένη βαθμονόμηση, η μέση τιμή S1 Abs/τυφλού χρησιμοποιείται για να ενημερώσει την απορρόφηση προτύπου (S1 Abs) που φαίνεται στην οθόνη Calibration. Χρησιμοποιείται επίσης για να ενημερώσει την πρώτη στήλη των τιμών S1 στην αναφορά Calibration Monitor.

Η τιμή S2 ενημερώνει την πρώτη στήλη των τιμών S2 στην αναφορά Calibration Monitor.

Οι νέες τιμές χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του συντελεστή K. Όταν χρησιμοποιείται στους υπολογισμούς, ο συντελεστής K στρογγυλοποιείται αυτόματα. Για παράδειγμα, ένας συντελεστής K ίσος με 4617,45 θα γίνει 4617. Επιπλέον, ο συντελεστής K που χρησιμοποιείται στους υπολογισμούς πολλαπλασιάζεται με την ανάλογη δύναμη του 10, ανάλογα με τη θέση της υποδιαστολής στη συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος 1.

6.1 Επισκόπηση βαθμονόμησης

Πίνακας τρόπων βαθμονόμησης

ΤΕΛΙΚΟΥ ΣΗΜΕΙΟΥ, mp_1		—S2—	
—S1—			
Διχρωματική απορρ. του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1	Μονοχρωματική απορρ. του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1	Διχρωματική απορρ. του $S2 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1	Μονοχρωματική απορρ. του $S2 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1

ΤΕΛΙΚΟΥ ΣΗΜΕΙΟΥ, $mp_1 \bullet mp_2$ (με μέτρηση τυφλού δείγματος)				—S2—	
—S1—					
Διχρωματική απορρ. του $(S1 + \Sigma R \text{ στο σημείο } mp_2) - d (S1 + R \text{ στο σημείο } mp_1)$	Μονοχρωματική απορρ. του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο mp_2	Διχρωματική απορρ. του $(S2 + \Sigma R \text{ στο σημείο } mp_2) - d (S1 + R \text{ στο σημείο } mp_1)$	Μονοχρωματική απορρ. του $S2 + \Sigma R$ στο σημείο mp_2		

ΚΙΝΗΤΙΚΗ A, $mp_1 \bullet mp_2$		—S1—	
Διχρωματική μεταβολή της απορρ./λεπτό του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο $mp_1 \bullet mp_2$	Μονοχρωματική απορρόφηση του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1		

ΚΙΝΗΤΙΚΗ B, Τρ. λειτουργίας 1 (Εξέταση 1)		—S1—	
Διχρωματική μεταβολή της απορρ./λεπτό του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο $mp_1 \bullet mp_2$ για την εξέταση 1	Μονοχρωματική απορρόφηση του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1 για την εξέταση 1		

ΚΙΝΗΤΙΚΗ B, Τρ. λειτουργίας 1 (Εξέταση 2) (μήκη κύματος εξέτασης 2 $\neq$ μήκη κύματος εξέτασης 1)		—S1—	
Διχρωματική μεταβολή της απορρ./λεπτό του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο $mp_1 \bullet mp_2$ για την εξέταση 2	Μονοχρωματική απορρόφηση του $S1 + \Sigma R$ στο σημείο mp_1 για την εξέταση 2		

6.2 Γραμμική βαθμονόμηση 1 σημείου

Επιλογή γραμμικής βαθμονόμησης

Αυτή η μέθοδος βαθμονόμησης χρησιμοποιείται για συστατικά δείγματος (π.χ. LD, AST, ALP) των οποίων ο ρυθμός μεταβολής της απορρόφησης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σχηματίζει μια γραμμική γραφική παράσταση, ενώ η κλίση της καμπύλης είναι ήδη γνωστή. Τα ένζυμα δεν μπορούν να καθοριστούν επακριβώς, αλλά μπορεί να προσδιοριστεί η δραστηριότητά τους. Η κλίση βασίζεται στην μοριακή απορροφητικότητα του απορροφώντος συστατικού (π.χ. NADH) της συγκεκριμένης χημικής αντίδρασης. Ο συντελεστής K των περισσότερων ενζυμικών αναλύσεων, και μερικών αναλύσεων υποστρώματος, καθορίζεται από τον αντιπρόσωπο της Roche Diagnostics κατά την εγκατάσταση, σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$K = \frac{C_c - C_b}{A_c - A_b}$$

Στη γραμμική βαθμονόμηση 1 σημείου, αναλύεται ένας μηδενικός βαθμονομητής (τυφλό) και η απορρόφηση και η συγκέντρωση αυτού, καθώς και ο προκαθορισμένος συντελεστής K, χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των τελικών αποτελεσμάτων του δείγματος (άγνωστο). Ο συχνότερα χρησιμοποιούμενος μηδενικός βαθμονομητής (τυφλό) είναι ο φυσιολογικός ορός (Saline).

Στοιχεία που εισάγονται στην οθόνη Test Parameters

Αριθμός παραμέτρου

- 21. Calib. Type (Type)
- 23. Calib. Conc. 1
- 24. Calib. Pos. 1

Εισαγωγή στοιχείων παραμέτρων

- Linear
- συγκέντρωση προτύπου 1
- θέση προτύπου 1

6.2 Γραμμική βαθμονόμηση 1 σημείου

Υπολογισμός γραμμικής βαθμονόμησης 1 σημείου

Το τελικό αποτέλεσμα ενός αγνώστου δείγματος υπολογίζεται με βάση την εξίσωση για μια ευθεία γραμμή:

$$y = ax + b \quad \text{ή} \quad x = \frac{(y - b)}{a} \quad \text{ή} \quad x = \frac{1}{a} (y - b)$$

όπου:

- x = συγκέντρωση
- y = απορρόφηση
- a = κλίση
- b = τεταγμένη y ή απόκλιση

$$K = \frac{1}{a}, \text{ επομένως: } C_x = K (A_x - A_b)$$

όπου:

- C_x = συγκέντρωση αγνώστου
- A_x = απορρόφηση αγνώστου
- A_b = απορρόφηση τυφλού
- K = συντελεστής K

Το τελικό αποτέλεσμα ενός αγνώστου δείγματος υπολογίζεται με τις παρακάτω εξισώσεις:
όταν $C_b = 0$:

$$b = A_b \quad C_x = x \quad A_x = y \quad K = \frac{1}{a}$$

Με αντικατάσταση:

$$C_x = [K (A_x - A_b) \cdot IF_A] + IF_B$$

όταν $C_b \neq 0$:

$$b = A_b - a \cdot C_b \quad C_x = x \quad A_x = y \quad K = \frac{1}{a}$$

Με αντικατάσταση:

$$C_x = [(K (A_x - A_b) + C_b) \cdot IF_A] + IF_B$$

όπου:

- C_x = συγκέντρωση αγνώστου
- A_x = μετρηθείσα απορρόφηση αγνώστου
- C_b = συγκέντρωση του προτύπου 1/τυφλού
- K = συντελεστής K (αντίστροφο της κλίσης)
- A_b = απορρόφηση προτύπου 1/τυφλού
- IF_A, IF_B = σταθερές του αναλυτή που αντιπροσωπεύουν την κλίση και την τεταγμένη

6.3 Γραμμική βαθμονόμηση 2 σημείων

Υπολογισμός γραμμικής βαθμονόμησης 2 σημείων

Η κλίση για μια γραμμική βαθμονόμηση 2 σημείων υπολογίζεται με βάση την εξίσωση για μια ευθεία γραμμή:

$$y = ax + b \quad \text{ή} \quad x = \frac{(y - b)}{a} \quad \text{ή} \quad x = \frac{1}{a}(y - b)$$

όπου:

x	=	συγκέντρωση
y	=	απορρόφηση
a	=	κλίση
b	=	τεταγμένη y ή απόκλιση

Επίλυση για κλίση (a) χρησιμοποιώντας δύο σημεία:

$$a = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{A_s - A_b}{C_s - C_b} \quad K = \frac{1}{a} = \frac{C_s - C_b}{A_s - A_b}$$

Επίλυση για τεταγμένη y (b) χρησιμοποιώντας δύο σημεία:

όταν $C_b = 0$: $b = A_b$

όταν $C_b \neq 0$: $b = A_b - a \cdot C_b$

όπου:

A_s	=	απορρόφηση της αντίδρασης του δεύτερου βαθμονομητή
A_b	=	απορρόφηση της αντίδρασης του προτύπου 1/βαθμονομητή τυφλού
C_s	=	συγκέντρωση του δεύτερου βαθμονομητή
C_b	=	συγκέντρωση του προτύπου 1/ βαθμονομητή τυφλού
K	=	συντελεστής βαθμονόμησης

Το τελικό αποτέλεσμα ενός αγνώστου δείγματος υπολογίζεται με τις παρακάτω εξισώσεις:

Από την εξίσωση για μια ευθεία γραμμή:

$$x = \frac{1}{a}(y - b)$$

$$\text{Επομένως: } x = K(y - b)$$

όταν $C_b = 0$:

$$b = A_b$$

$$C_x = x$$

$$A_x = y$$

$$K = \frac{1}{a}$$

6.4 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 4P

Επιλογή μη γραμμικής βαθμονόμησης Logit-Log 4P

Η μη γραμμική μέθοδος, logit-log 4P, εφαρμόζεται σε μια καμπύλη βαθμονόμησης στην οποία η απορρόφηση αυξάνεται ή μειώνεται μη γραμμικά όσο αυξάνει η συγκέντρωση. Στο παρακάτω παράδειγμα, η απορρόφηση αυξάνεται καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση.

Στοιχεία που εισάγονται στην οθόνη Test Parameters

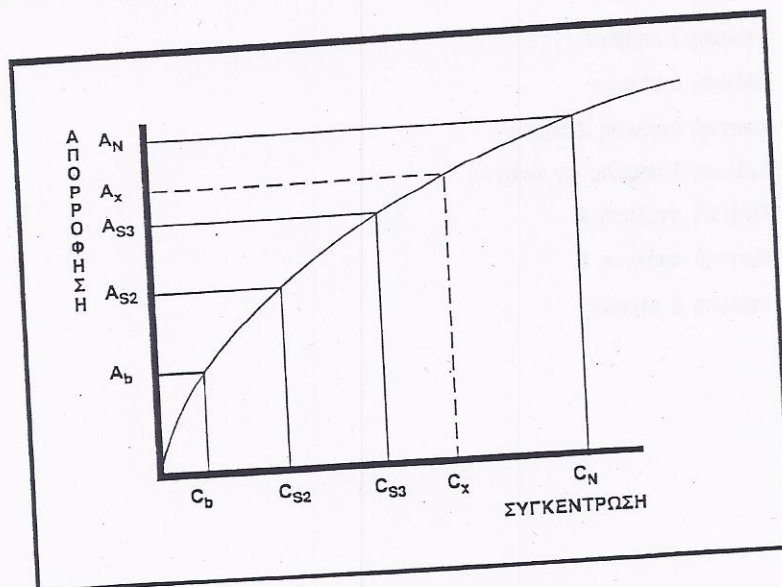
Αριθμός παραμέτρου

- 21. Calib. Type (Type)
- 22. Calib. Type (Wght)
- 23. Calib. Conc. 1
- 24. Calib. Pos. 1
- 25. Calib. Conc. 2
- 26. Calib. Pos. 2
- 27. Calib. Conc. 3
- 28. Calib. Pos. 3
- 29. Calib. Conc. 4
- 30. Calib. Pos. 4
- 31. Calib. Conc. 5
- 32. Calib. Pos. 5
- 33. Calib. Conc. 6
- 34. Calib. Pos. 6

Εισαγωγή στοιχείων παραμέτρων

- Logit-log 4P
- εισαγάγετε τη σταθμισμένη τιμή
- συγκέντρωση προτύπου 1
- θέση προτύπου 1
- συγκέντρωση προτύπου 2
- θέση προτύπου 2
- συγκέντρωση προτύπου 3
- θέση προτύπου 3
- συγκέντρωση προτύπου 4
- θέση προτύπου 4
- συγκέντρωση προτύπου 5
- θέση προτύπου 5
- συγκέντρωση προτύπου 6
- θέση προτύπου 6

Γραφική παράσταση μη γραμμικής βαθμονόμησης Logit-Log 4P



6.4 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 4P

Τύποι ανάλυσης

Η μη γραμμική βαθμονόμηση logit-log 4P μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τους ακόλουθους τύπους ανάλυσης:

Ανάλυση 1 σημείου

Κινητική ανάλυση 2 σημείων

Ανάλυση 2 σημείων

Κινητική ανάλυση A

6.5 Χρήση της στάθμισης στη μη γραμμική βαθμονόμηση

Συντελεστές στάθμισης

Ο συντελεστής στάθμισης είναι αντιστρόφως ανάλογος της απορρόφησης του βαθμονομητή, έτσι ώστε οι βαθμονομητές με μικρότερη απορρόφηση θα έχουν μεγαλύτερο συντελεστή.

Εάν...	Τότε...
εάν έχει εισαχθεί 1 στο πεδίο Weight	ο συντελεστής στάθμισης για το σημείο του βαθμονομητή i θα είναι: $w_i = \frac{1}{A_i}$
εάν έχει εισαχθεί 2 στο πεδίο Weight	ο συντελεστής στάθμισης για το σημείο του βαθμονομητή i θα είναι: $w_i = \frac{1}{A_i^2}$

Για να διασφαλιστεί ότι δεν θα υπάρχει πολύ μεγάλη διαφορά μεταξύ της χαμηλότερης και υψηλότερης στάθμισης, προστίθεται ένας σταθερός συντελεστής F στην απορρόφηση κάθε βαθμονομητή προτού εφαρμοστεί η διαδικασία προσαρμογής της καμπύλης. Ο συντελεστής F υπολογίζεται ως εξής:

$$F = \frac{1}{9} (A_{\max} - A_{\min})$$

Έτσι, όταν επιλέγεται ένας συντελεστής στάθμισης ίσος με 1, ο πραγματικός συντελεστής στάθμισης είναι:

$$w_i = \frac{1}{A_i + F}$$

Όταν επιλέγεται ένας συντελεστής στάθμισης ίσος με 2, ο πραγματικός συντελεστής στάθμισης είναι:

$$w_i = \frac{1}{(A_i + F)^2}$$

Ο μηχανισμός αυτός εξασφαλίζει ότι ο λόγος της υψηλότερης στάθμισης προς την χαμηλότερη στάθμιση δεν θα υπερβαίνει ποτέ το 10 για την επιλογή 1 ή το 100 για την επιλογή 2. Εφόσον ολοκληρωθεί η διαδικασία προσαρμογής της καμπύλης, ο συντελεστής F αφαιρείται από την παράμετρο B της εξίσωσης logit-log, για να διασφαλιστεί ότι η καμπύλη αντιστοιχεί στις πραγματικές τιμές απορρόφησης που λαμβάνονται για τους βαθμονομητές και όχι στις προσαρμοσμένες τιμές που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία προσαρμογής της καμπύλης στάθμισης.

6.6 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 5P

Υπολογισμός μη γραμμικής βαθμονόμησης Logit-Log 5P

Το μαθηματικό μοντέλο για τον κατά προσέγγιση υπολογισμό της καμπύλης μη γραμμικής βαθμονόμησης logit-log 5P είναι το εξής:

$$A_N = B + \frac{K_c}{1 + \exp \{-(a + b \cdot \ln C + c \cdot C)\}}$$

όπου:

A_N	=	μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμός μεταβολής απορρόφησης του προτύπου N
B	=	μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμός μεταβολής απορρόφησης παραμέτρου καμπύλης βαθμονόμησης για το πρότυπο 1 (STD1)
K_c	=	προβλεπόμενο εύρος (span) της απορρόφησης ή του ρυθμού απορρόφησης μεταξύ μηδενικής και άπειρης συγκέντρωσης $A(\ln f) - A(0)$
a	=	παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης (τεταγμένη logit)
b	=	παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης (κλίση logit)
c	=	παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης (συντελεστής ασυμμετρίας)
C	=	συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας του προτύπου διαλύματος
$\ln C$	=	φυσικός λογάριθμος του C - C_1

Η εξίσωση για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του αγνώστου δείγματος είναι η εξής:

$$a + b \ln C + c \cdot C - \ln \left[\frac{A_x - B}{K - (A_x - B)} \right] = 0$$

$$A_x = B + \frac{K_c}{1 + \exp \{-(a + b \cdot \ln C + c \cdot C)\}}$$

$$C_x = (C + C_1) \cdot IF_A + IF_B$$

όπου:

C_x	=	συγκέντρωση του δείγματος διορθωμένη για τη συγκέντρωση του προτύπου 1/τυφλού και τους συντελεστές του αναλυτή
C_1	=	συγκέντρωση του προτύπου 1/τυφλού
C	=	$C_x - C_1$, όπου το C λαμβάνεται από τη μέθοδο προσέγγισης του Newton
a, b, c	=	παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης
A_x	=	τιμή απορρόφησης δείγματος
B	=	μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμός μεταβολής απορρόφησης παραμέτρου καμπύλης βαθμονόμησης για το πρότυπο 1/τυφλό

6.6 Μη γραμμική βαθμονόμηση Logit-Log 5P

Τύποι ανάλυσης

Η μη γραμμική βαθμονόμηση logit-log 5P μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τους ακόλουθους τύπους ανάλυσης:

Ανάλυση 1 σημείου

Ανάλυση 2 σημείων

Κινητική ανάλυση 2 σημείων

Κινητική ανάλυση A

6.7 Μη γραμμική βαθμονόμηση Spline

Υπολογισμός μη γραμμικής βαθμονόμησης Spline

Το μαθηματικό μοντέλο για τον κατά προσέγγιση υπολογισμό της καμπύλης μη γραμμικής βαθμονόμησης spline είναι το εξής:

$$A = a(l) + b(l)(C - C(l)) + c(l)(C - C(l))^2 + B(l)(C - C(l))^3$$

όπου:

- A = μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμός μεταβολής απορρόφησης του προτύπου (εκτός του προτύπου 1/τυφλού)
- B = παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης (μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμός μεταβολής απορρόφησης για το πρότυπο 1/τυφλό)
- a, b, c = παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης
- C = συγκέντρωση του προτύπου
- a(l), b(l), c(l), d(l) = παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης που χρησιμοποιούνται μόνο στο μοντέλο 5. Οι παράμετροι αυτοί καθορίζονται σύμφωνα με τους αριθμούς του προτύπου διαλύματος l και l + 1 όπου 1 ≤ l ≤ 5.

Η εξίσωση για τη συγκέντρωση του αγνώστου δείγματος είναι η εξής:

$$C_x = (C + C_1) \cdot IF_A + IF_B$$

$$a(l) + b(l)(C_x - C(l)) + c(l)(C_x - C(l))^2 + B(l)(C_x - C(l))^3 - A_x = 0$$

$$A_x = a(l) + b(l)(C_x - C(l)) + c(l)(C_x - C(l))^2 + B(l)(C_x - C(l))^3$$

όπου:

- C_x = συγκέντρωση του δείγματος διορθωμένη για τη συγκέντρωση του προτύπου 1 και τους συντελεστές του αναλυτή
- C = συγκέντρωση δείγματος
- C₁ = συγκέντρωση του προτύπου 1
- IF_A, IF_B = σταθερές του αναλυτή που αντιπροσωπεύουν την κλίση και την τεταγμένη
- a, b, c = παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης
- A_x = τιμή απορρόφησης δείγματος
- B = παράμετρος καμπύλης βαθμονόμησης (μετρηθείσα τιμή απορρόφησης ή ρυθμού μεταβολής απορρόφησης για το πρότυπο 1)
- K = παράμετρος κλίμακας
- ln C = φυσικός λογάριθμος της συγκέντρωσης του δείγματος
- a(l), b(l), c(l), d(l) = παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης που χρησιμοποιούνται μόνο στη βαθμονόμηση Spline. Οι παράμετροι αυτοί καθορίζονται σύμφωνα με τους αριθμούς του προτύπου διαλύματος l και l + 1 όπου 1 ≤ l ≤ 5.

6.8 Μη γραμμική βαθμονόμηση σημείο προς σημείο

Επιλογή μη γραμμικής βαθμονόμησης σημείο προς σημείο

Η μη γραμμική μέθοδος 5, σημείο προς σημείο, εφαρμόζεται σε μια καμπύλη βαθμονόμησης στην οποία η απορρόφηση αυξάνει όσο αυξάνει η συγκέντρωση. Το εύρος μεταξύ των τιμών μέτρησης τυπικών δειγμάτων x και $x - 1$ υπολογίζεται κατά προσέγγιση και σχεδιάζεται μια καμπύλη.

Στοιχεία που εισάγονται στην οθόνη Test Parameters

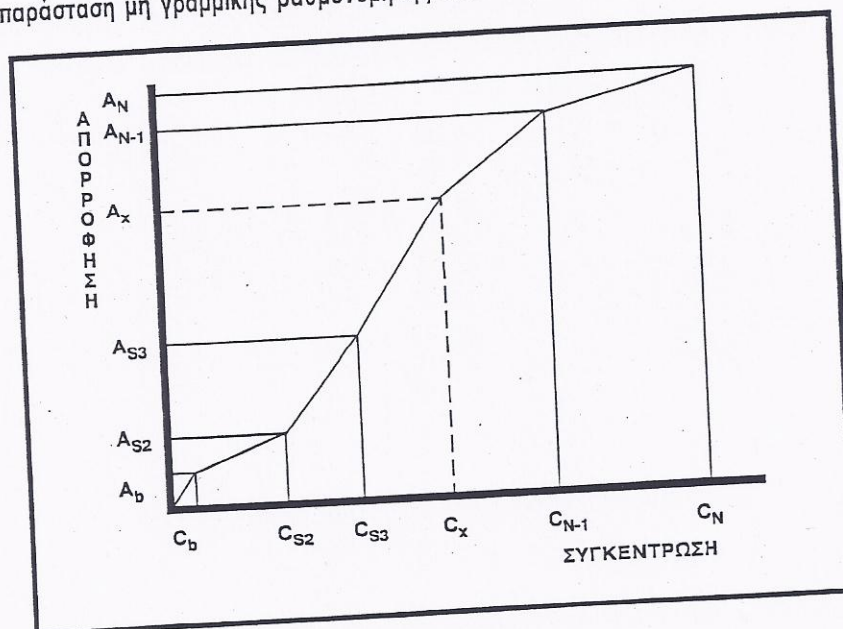
Αριθμός παραμέτρου

- 21. Calib. Type (Type)
- 23. Calib. Conc. 1
- 24. Calib. Pos. 1
- 25. Calib. Conc. 2
- 26. Calib. Pos. 2
- 27. Calib. Conc. 3
- 28. Calib. Pos. 3
- 29. Calib. Conc. 4
- 30. Calib. Pos. 4
- 31. Calib. Conc. 5
- 32. Calib. Pos. 5
- 33. Calib. Conc. 6
- 34. Calib. Pos. 6

Εισαγωγή στοιχείων παραμέτρων

- Point to Point
- συγκέντρωση προτύπου 1
- θέση προτύπου 1
- συγκέντρωση προτύπου 2
- θέση προτύπου 2
- συγκέντρωση προτύπου 3
- θέση προτύπου 3
- συγκέντρωση προτύπου 4
- θέση προτύπου 4
- συγκέντρωση προτύπου 5
- θέση προτύπου 5
- συγκέντρωση προτύπου 6
- θέση προτύπου 6

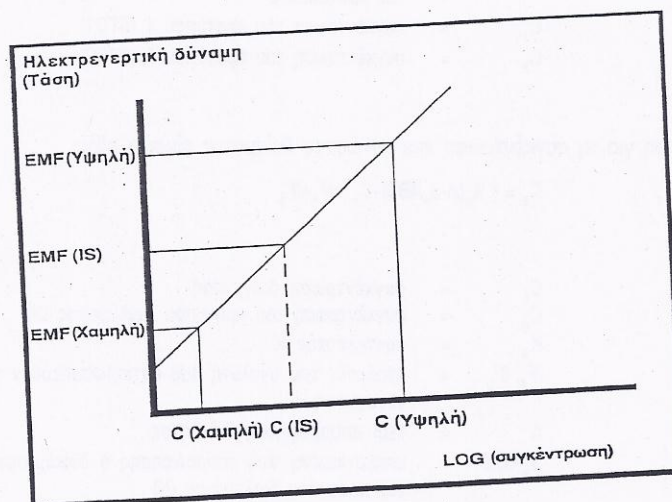
Γραφική παράσταση μη γραμμικής βαθμονόμησης Line-Graph



6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Το σύστημα ISE απαιτεί πλήρη βαθμονόμηση μία φορά κάθε 24 ώρες. Η βαθμονόμηση των Na^+ , K^+ και Cl^- στην υπομονάδα ISE απαιτεί το πρότυπο ISE 1 (χαμηλής συγκέντρωσης) και το πρότυπο ISE 2 (υψηλής συγκέντρωσης), τα οποία είναι υδατικά πρότυπα διαλύματα, και το πρότυπο ISE 3 (Precical), ένα πρότυπο διάλυμα πρωτεϊνικής σύστασης. Εάν ο αναλυτής βρίσκεται σε κατάσταση λειτουργίας και το σύστημα ISE έχει παραμείνει ανενεργό επί 10 λεπτά, εκτελείται αυτόματα βαθμονόμηση ενός σημείου, χρησιμοποιώντας το εσωτερικό πρότυπο διάλυμα (IS). Η ηλεκτρεγερτική δύναμη (EMF) (τάση) μετράται αφού επέλθει ισορροπία στη μεμβράνη του ηλεκτροδίου, όπως φαίνεται στη συνέχεια.



Με βάση αυτές τις ενδείξεις και την τιμή ανάλυσης των προτύπων, ο υπολογιστής του αναλυτή υπολογίζει στη συνέχεια μια κλίση για τη βαθμονόμηση. Το IS είναι το εσωτερικό πρότυπο, και η συγκέντρωσή του υπολογίζεται από την ηλεκτρεγερτική του δύναμη, όπως φαίνεται στην παραπάνω γραφική παράσταση. Η τιμή αυτή αποθηκεύεται στη μνήμη του υπολογιστή για μελλοντική αναφορά.

6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Υπολογισμός εσωτερικού προτύπου

Σε κάθε σύστημα μετρήσεων ISE, υπάρχει ένας αριθμός συνδέσεων μεταξύ καλωδίων, μεμβρανών και αντιδραστηρίων. Το εσωτερικό πρότυπο διάλυμα αντισταθμίζει τις αποκλίσεις δυναμικού στα σημεία ένωσης.

Μετά τον καθορισμό της κλίσης κατά τη βαθμονόμηση, μετράται η συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου διαλύματος. Η υπολογισμένη τιμή του εσωτερικού προτύπου διαλύματος, καθώς και η τάση, εμφανίζονται στην αναφορά βαθμονόμησης

Η συγκέντρωση του Na^+ , K^+ και Cl^- στο εσωτερικό πρότυπο διάλυμα υπολογίζεται από την ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του κάθε ηλεκτροδίου, η οποία μετρήθηκε στη διάρκεια της βαθμονόμησης σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση.

$$C_{\text{IS}} = C_{\text{L}} \cdot 10^{\frac{E_{\text{IS}} - E_{\text{L}}}{S}}$$

όπου:

C_{S}	=	συγκέντρωση του συγκεκριμένου ιόντος στο εσωτερικό πρότυπο
C_{L}	=	συγκέντρωση εισαγωγής του πρότυπου χαμηλής συγκέντρωσης.
E_{S}	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του συγκεκριμένου ιόντος στο εσωτερικό πρότυπο
E_{L}	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του προτύπου χαμηλής συγκέντρωσης για το συγκεκριμένο ιόν
S	=	κλίση

6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Επισκόπηση αντιστάθμισης

Επειδή τα πρότυπα διαλύματα υψηλής και χαμηλής συγκέντρωσης είναι υδατικά, χρησιμοποιείται ως αντιστάθμιση ένας βαθμονομητής ορού Precical, για να ρυθμίσει την απόκλιση της κλίσης. Αυτός αντισταθμίζει τις διαφορές δραστηρότητας μεταξύ των υδατικών πρότυπων διαλυμάτων και των δειγμάτων που έχουν πρωτεϊνική σύσταση. Η διαφορά αυτή μεταξύ των υπολογισμένων και των πραγματικών τιμών ονομάζεται τιμή αντιστάθμισης [C-Value (τιμή C) στην αναφορά Calibration Monitor].

Υπολογισμός τιμής αντιστάθμισης

Για την αντιστάθμιση συνιστάται η χρήση του βαθμονομητή με βάση ορό Precical, ή του RD-Human Compensator, για τη ρύθμιση των διαφορών στην απόκριση των ηλεκτροδίων μεταξύ των υδατικών και των πρωτεϊνικών δειγμάτων.

Η συγκέντρωση των ιόντων στο διάλυμα αντιστάθμισης υπολογίζεται σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

Εξίσωση:

$$C_x = C_{is} \times 10^{\frac{E_c - E_{is}}{S}}$$

όπου:

C_x	=	μετρηθείσα συγκέντρωση του συγκεκριμένου ιόντος στο διάλυμα αντιστάθμισης (Precical)
C_{is}	=	συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου, όπως καθορίστηκε κατά την βαθμονόμηση
E_c	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του διαλύματος αντιστάθμισης για το συγκεκριμένο ιόν
E_{is}	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) του εσωτερικού προτύπου για το συγκεκριμένο ιόν
S	=	κλίση

6.9 Βαθμονόμηση υπομονάδας ISE

Επειδή τα ιόντα νατρίου, καλίου και χλωρίου έχουν ένα μόνο φορτίο, οι τιμές των R , T , n και F συνδυάζονται σε μία και μόνο τιμή η οποία ονομάζεται κλίση (S). Επίσης, επειδή ο αναλυτής αραιώνει το δείγμα σε αναλογία περίπου 1:50, η ιοντική ισχύς και ο συντελεστής δραστηρότητας (f) είναι ουσιαστικά σταθερά. Οι όροι αυτοί μπορούν, στη συνέχεια, να ενσωματωθούν στον όρο E'_{is} . Η εξίσωση του Nernst μπορεί να διατυπωθεί ξανά ως εξής, για να ανταποκρίνεται στις παραπάνω καθορισμένες συνθήκες:

Εξίσωση 2:

$$E = E'_{is} + S \times \ln(C_i)$$

όπου:

E	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη συγκεκριμένου ηλεκτροδίου (τάση)
E'_{is}	=	ηλεκτρεγερτική δύναμη εσωτερικού προτύπου (τάση) (με σταθερές)
S	=	κλίση
C_i	=	συγκέντρωση ιόντος στο μίγμα δείγματος/αραιωτικού διαλύματος
$\ln$	=	φυσικός λογάριθμος

Η νέα διατύπωση της εξίσωσης υποδεικνύει ότι η ηλεκτρεγερτική δύναμη (τάση) ενός συγκεκριμένου ηλεκτροδίου είναι ευθέως ανάλογη του λογαρίθμου της δραστηρότητας του διαχεόμενου ιόντος στο μίγμα δείγματος/αντιδραστηρίου. Η εξίσωση αυτή μπορεί να συσχετιστεί με τη βασική εξίσωση που χρησιμοποιείται για τις γραμμικές, φωτομετρικές χημικές αναλύσεις, ως εξής:

Εξίσωση 3:

$$\begin{aligned} \text{Μετρήσεις ISE:} \quad E &= S \cdot \ln(C_i) + E'_{is} \\ \text{Φωτομετρικές μετρήσεις:} \quad y &= ax + b \end{aligned}$$

όπου:

E	=	y (άξονας y)
S	=	a (κλίση)
$\ln C_i$	=	x (άξονας x)
E'_{is}	=	b (τεταγμένη y)

Η εξίσωση του Nernst μπορεί να διατυπωθεί και πάλι ως εξής, για να εκφράζει συγκέντρωση:

Εξίσωση 4:

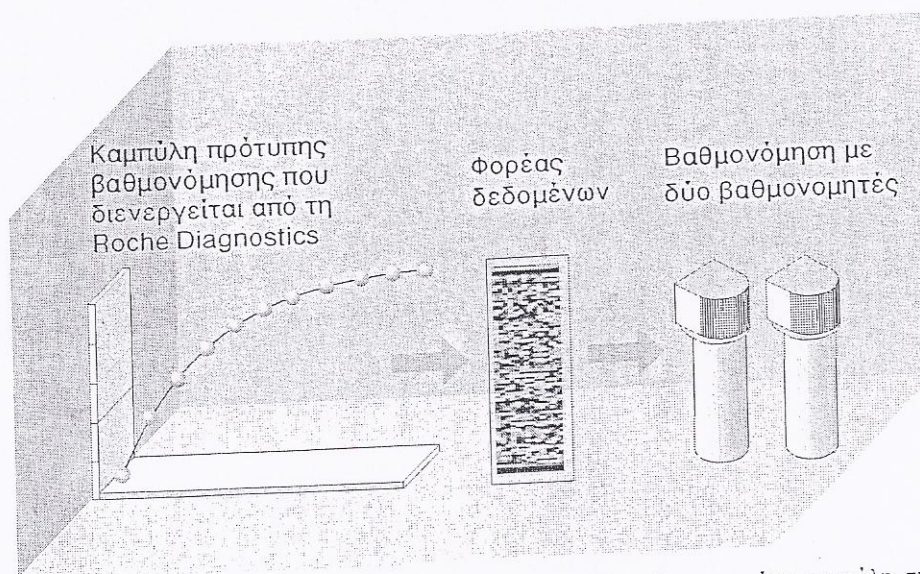
$$C_i = 10^{\frac{E - E'_{is}}{S}}$$

όπου ισχύουν οι ορισμοί που δίνονται στην προηγούμενη σελίδα.

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

6.1 Βαθμονόμηση αντιδραστηρίου

Η βαθμονόμηση απαιτείται για τον όσο το δυνατόν ακριβέστερο προσδιορισμό της συγκέντρωσης μιας άγνωστης ουσίας ανεξάρτητα από την παρτίδα του αντιδραστηρίου, την κατάσταση του και την κατάσταση του αναλυτή. Για τον λόγο αυτό, η Roche Diagnostics δημιουργεί μια πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης κατά τη διάρκεια της παραγωγής του αντιδραστηρίου, η οποία υπάρχει κωδικοποιημένη στον γραμμικό κώδικα δύο διαστάσεων του αντίστοιχου σετ αντιδραστηρίων. Οι πληροφορίες αυτές στη συνέχεια μεταφέρονται στον αναλυτή. Στο εργαστήριο του πελάτη, ο αναλυτής προσαρμόζει την πρότυπη καμπύλη μετρώντας δυο βαθμονομητές στις συνήθεις συνθήκες του εργαστηρίου.



Η καμπύλη βαθμονόμησης η οποία παράχθηκε από την κωδικοποιημένη καμπύλη της πρότυπης βαθμονόμησης καθώς και από τη βαθμονόμηση που μετρήθηκε, είναι ειδική για την κάθε παρτίδα αντιδραστηρίου και, σε μερικές περιπτώσεις, για κάθε διαφορετικό σετ αντιδραστηρίων. Το αποτέλεσμα μιας βαθμονόμησης επικυρώνεται αυτόματα από τον αναλυτή και μπορεί να επικυρωθεί περαιτέρω και από το χειριστή.

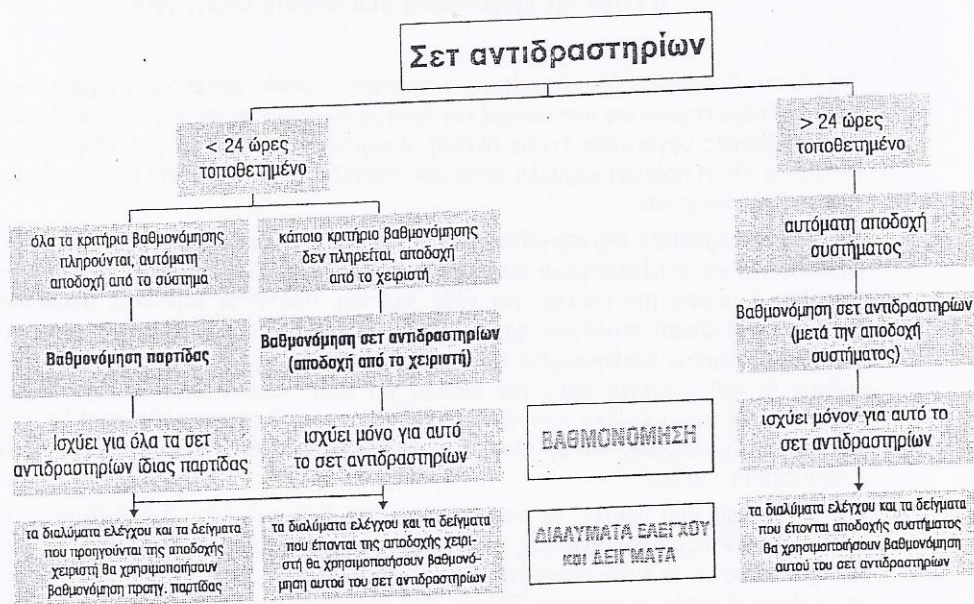
Βαθμονόμηση

Βαθμονόμηση παρτίδας

Η βαθμονόμηση παρτίδας (L-Cal) είναι μια βαθμονόμηση που εκτελείται με νέο σετ αντιδραστηρίων, το οποίο δεν έχει παραμείνει στον αναλυτή περισσότερο από 24 ώρες. Για την ενημέρωση των δύο από τις τέσσερις παραμέτρους ορισμού της καμπύλης Rodbard χρησιμοποιούνται βαθμονομητές ειδικοί για κάθε αντιδραστήριο. Με τον τρόπο αυτόν η καμπύλη προσαρμόζεται, έτσι ώστε να αντιστοιχεί στην ειδική για την παρτίδα αρχική καμπύλη βαθμονόμησης. Η βαθμονόμηση παρτίδας είναι έγκυρη και για όλα τα άλλα σετ αντιδραστηρίων της ίδιας παρτίδας, με την προϋπόθεση ότι τα σετ έχουν φυλαχθεί σύμφωνα με τις οδηγίες του ενθέτου της συσκευασίας και δεν βρίσκονται στον αναλυτή περισσότερο από 7 ημέρες.

Βαθμονόμηση σετ αντιδραστηρίων

Μια βαθμονόμηση σετ αντιδραστηρίων (R-Cal) εκτελείται όταν το αντιδραστήριο έχει παραμείνει στον αναλυτή περισσότερο από 24 ώρες ή όταν το επιθυμεί ο χρήστης. Η βαθμονόμηση του σετ αντιδραστηρίων είναι έγκυρη για ένα μόνον συγκεκριμένο σετ. Η βαθμονόμηση του σετ αντιδραστηρίων συγκρίνεται για επαλήθευση με την πιο πρόσφατα αποθηκευμένη βαθμονόμηση L-Cal.



Βαθμονόμηση

Αξιολόγηση της βαθμονόμησης και κριτήρια ποιότητας

Η κατάσταση μιας βαθμονόμησης εμφανίζεται στην οθόνη **CALIBRATION** (Βαθμονόμηση) (φάκελος **UTILITY**) και εκτυπώνεται με τις αναφορές. Τα έγχρωμα κουμπιά παρέχουν τη δυνατότητα να πραγματοποιείται με ευκολία η εκτίμηση της κατάστασης της βαθμονόμησης. Για λεπτομερή περιγραφή των καταστάσεων βαθμονόμησης και των κριτηρίων ποιότητας, ανατρέξτε στα κεφάλαια 7 και 8 του οδηγού λογισμικού.

Βαθμονόμηση

Γραμμική συνάρτηση βαθμονόμησης

Η μετατροπή του μετρηθέντος σήματος σε συγκέντρωση γίνεται ως εξής:

$$y = b \cdot x + a$$

y = Σήμα

x = Συγκέντρωση

a, b = Παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης
(τεταγμένη y και κλίση)

Οι βαθμονομήσεις οι οποίες χρησιμοποιούν γραμμική καμπύλη βαθμονόμησης, εκτελούνται πάντοτε με τη χρήση δύο βαθμονομητών.

Ο παρακάτω αντίστροφος τύπος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης άγνωστης ουσίας με βάση το σήμα της.

$$x = \frac{y - a}{b}$$

x = Συγκέντρωση δείγματος

a, b = Παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης

y = Σήμα

Γραμμική αντίστροφη συνάρτηση βαθμονόμησης

Η μετατροπή του μετρηθέντος σήματος σε συγκέντρωση γίνεται ως εξής:

$$= b \cdot \frac{1}{y} x + a$$

y = Σήμα

x = Συγκέντρωση

a, b = Παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης
(τεταγμένη y και κλίση)

Οι βαθμονομήσεις στις οποίες χρησιμοποιείται καμπύλη γραμμικής αντίστροφης βαθμονόμησης, εκτελούνται πάντα με τη χρήση δύο βαθμονομητών.

Ο παρακάτω αντίστροφος τύπος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης άγνωστης ουσίας με βάση το σήμα της.

$$x = \frac{1 - a \cdot y}{b \cdot y}$$

x = Συγκέντρωση δείγματος

a, b = Παράμετροι καμπύλης βαθμονόμησης

y = Σήμα

Βαθμονόμηση

Υπολογισμός αποτελεσμάτων αναλύσεων ποιοτικού προσδιορισμού

Για τον υπολογισμό του αποτελέσματος μιας ανάλυσης ποιοτικού προσδιορισμού (εξέταση με κατώφλι), ο αναλυτής Elecsys 2010 συγκρίνει το ενεργό σήμα της μέτρησης, S_{eff} , με το σήμα της τιμής κατωφλίου της βαθμονόμησης S_{Cutoff} . Για το σκοπό αυτό, υπολογίζεται ένας δείκτης κατωφλίου, $Cutoff_{Index}$, ως ο λόγος του ενεργού σήματος προς το σήμα της τιμής κατωφλίου σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο.

$$Cutoff_{Index} = \frac{S_{eff}}{S_{Cutoff}}$$

Εάν το ενεργό σήμα της μέτρησης S_{eff} ισούται με το σήμα της τιμής κατωφλίου της βαθμονόμησης S_{Cutoff} , ο δείκτης κατωφλίου $Cutoff_{Index}$ ισούται με 1. Για ενεργά σήματα που βρίσκονται χαμηλότερα ή υψηλότερα από το σήμα της τιμής κατωφλίου, ο δείκτης κατωφλίου είναι μικρότερος ή μεγαλύτερος από τη μονάδα, αντίστοιχα.

Ο γραμμικός κώδικας δύο διαστάσεων περιέχει καθορισμένες οριακές τιμές για τον προσδιορισμό ενός αποτελέσματος ανάλυσης ως θετικού. Εάν οι δείκτες κατωφλίου, οι οποίοι υπολογίστηκαν από τα ενεργά σήματα, βρίσκονται μεταξύ του κατώτατου (LL) και του ανώτατου ορίου (UL), δεν μπορεί να προσδιοριστεί εάν το αποτέλεσμα της ανάλυσης ενός δείγματος είναι θετικό ή αρνητικό (οριακό).

Το αποτέλεσμα της εξέτασης υπολογίζεται ως εξής, ανάλογα με την αρχή εξέτασης (εξετάσεις που χρησιμοποιούν την αρχή της διπλής ανοσοσήμανσης εμφανίζουν θετική κλίση, εξετάσεις που χρησιμοποιούν την αρχή του ανταγωνισμού εμφανίζουν αρνητική κλίση).

Αποτέλεσμα	Εξέταση διπλής ανοσοσήμανσης (θετική κλίση)	Εξέταση ανταγωνισμού (αρνητική κλίση)
θετικό	$Cutoff_{Index} \geq UL$	$Cutoff_{Index} \leq LL$
αρνητικό	$Cutoff_{Index} < LL$	$Cutoff_{Index} > UL$
οριακό	$LL \leq Cutoff_{Index} < UL$	$LL < Cutoff_{Index} \leq UL$