ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 11843-5— 2012

Статистические методы

СПОСОБНОСТЬ ОБНАРУЖЕНИЯ

Часть 5

Методология в случаях линейной и нелинейной калибровки

(ISO 11843-5:2008,
Capability of detection - Part 5: Methodology in the linear and non-linear calibration cases, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Автономной некоммерческой организацией «Научно-исследовательский центр контроля и диагностики технических систем» (АНО «НИЦ КД») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 125 «Статистические методы в управлении качеством продукции»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1420-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 11843-5:2008 «Способность обнаружения. Часть 5. Методология в случаях линейной и нелинейной калибровки» (ISO 11843-5:2008 «Capability of detection — Part 5: Methodology in the linear and non-linear calibration cases», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5—2012 (пункт 3.5).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2019 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 2
3 Термины и определения 2
4 Функция прецизионности приведенной переменной состояния 3
5 Критическое значение и минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния 4
6 Примеры 6
Приложение А (обязательное) Условные обозначения и сокращения, используемые в стандарте 10
Приложение В (справочное) Обоснование уравнения (9) 11
Приложение С (справочное) Обоснование уравнения (13) 12
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам 13
Библиография 14

Введение

На практике часто используют как линейные, так и нелинейные функции калибровки. В настоящем стандарте рассмотрены оба случая применительно к оценке способности обнаружения на основе исследования распределений вероятностей приведенной переменной состояния (измеряемой величины), а не только функции калибровки.

В настоящем стандарте использованы основные понятия ИСО 11843-2[1)], включая вероятностные требования к α и β и случай линейной калибровки. В интервале значений от соответствующих базовому состоянию до минимального обнаруживаемого значения может быть применена линейная функция калибровки. Таким образом, обеспечена совместимость настоящего стандарта с ИСО 11843-2.

При сравнении аналитического метода, использующего линейную функцию калибровки, с аналогичным методом, использующим нелинейную функцию калибровки, рекомендуется применять настоящий стандарт. В случае линейной калибровки применимы ИСО 11843-2 и настоящий стандарт. Методы ИСО 11843-2, рассматривающие прецизионность для одной переменной отклика, дают тот же результат, что и применение настоящего стандарта, который требует исследования прецизионности для переменной отклика и для переменной состояния, так как исследование прецизионности отклика — то же, что и исследование прецизионности приведенной переменной состояния в случае линейной калибровки.

Применяемый в настоящем стандарте международный стандарт разработан техническим комитетом ИСО/ТС 69 «Применение статистических методов».

[1)] ИСО 11843-2:2000 «Способность обнаружения. Часть 2. Методология в случае линейной калибровки» (ISO 11843-2:2000 «Capability of detection — Part 2: Methodology in the linear calibration case»).

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Статистические методы

СПОСОБНОСТЬ ОБНАРУЖЕНИЯ

Часть 5

Методология в случаях линейной и нелинейной калибровки

Statistical methods. Capability of detection. Part 5. Methodology in the linear and non-linear calibration cases

Дата введения — 2013—12—01

1 Область применения

В настоящем стандарте рассмотрены линейные и нелинейные функции калибровки и установлены основные методы:

- построения функции прецизионности отклика, а именно, описания стандартного отклонения (SD[1)]) или коэффициента вариации (CV[2)]) отклика как функции приведенной переменной состояния;
- преобразования функции прецизионности в аналогичную функцию для приведенной переменной состояния и функции калибровки;
- использования полученной функции для оценки критического значения и минимального обнаруживаемого значения приведенной переменной состояния.

Методы, приведенные в настоящем стандарте, применимы, например, для проверки обнаружения какого-либо вещества различным измерительным оборудованием, к которому не может быть применен ИСО 11843-2. Эти методы могут быть применимы к стойким органическим загрязнителям (POP[3)]) окружающей среды, таким как диоксины, пестициды и гормоноподобные химические вещества при помощи конкурентного ELISA[4)] (иммуноферментный анализ) и тестов на наличие бактериальных эндотоксинов, вызывающих у человека гипертермию.

Определение и применение критического значения и минимального обнаруживаемого значения приведенной переменной состояния установлены в ИСО 11843-1 и ИСО 11843-2. В настоящем стандарте расширены методы, приведенные в ИСО 11843-2, на случай нелинейной калибровки.

Критическое значение x_c и минимальное обнаруживаемое значение x_d даны в единицах приведенной переменной состояния. Если x_c и x_d определены на основе распределения отклика, определение должно включать функцию калибровки, связывающую отклик с приведенной переменной состояния. Настоящий стандарт позволяет определить x_c и x_d на основе распределения приведенной переменной состояния независимо от вида функции калибровки, а, следовательно, независимо от ее линейности или нелинейности.

Функция калибровки должна быть непрерывной, дифференцируемой и монотонно возрастающей или убывающей.

В стандарте рассмотрены случаи, когда стандартное отклонение или коэффициент вариации известны только в окрестности минимального обнаруживаемого значения.

В пунктах 6.2, 6.3 и 6.4 настоящего стандарта приведены соответствующие примеры.

---

1) SD — standard deviation.
2) CV — coefficient of variation.
3) POP — persistent organic pollutants.
4) ELISA — enzyme-linked immunosorbent assay.

Издание официальное

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие международные стандарты:

ISO 3534-1, Statistics — Vocabulary and symbols — Part 1: General statistical terms and terms used in probability (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 1. Общие статистические термины и термины, используемые в вероятностных задачах)

ISO 3534-2, Statistics — Vocabulary and symbols — Part 2: Applied statistics (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 2. Прикладная статистика)

ISO 3534-3, Statistics — Vocabulary and symbols — Part 3: Design of experiments (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 3. Планирование эксперимента)

ISO 5725-1, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения)

ISO 11843-1:1997, Capability of detection — Part 1: Terms and definitions (Способность обнаружения. Часть 1. Термины и определения)

ISO 11843-2:2000, Capability of detection — Part 2: Methodology in the linear calibration case (Способность обнаружения. Часть 2. Методология в случае линейной калибровки)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ИСО 3534 (все части), ИСО 5725-1, ИСО 11843-1, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **критическое значение приведенной переменной состояния; x_c** (critical value of the net state variable): Значение приведенной переменной состояния X, превышение которого для заданной вероятности ошибки α приводит к решению о том, что наблюдаемая система не находится в базовом состоянии (см. рисунок 1).

[ИСО 11843-1:1997, 3.10]

3.2 **минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния** (minimum detectable value of the net state variable); x_d: Значение приведенной переменной состояния X в действительном состоянии, которое с вероятностью $(1 - \beta)$ ведет к заключению, что система не находится в базовом состоянии.

Примечание — Адаптированное определение по ИСО 11843-1:1997 и ИСО 11843-1:1997/Cor. 1:2003 (см. рисунок 1).

3.3 **прецизионность** (способности обнаружения) (precision): Стандартное отклонение наблюдаемого отклика или стандартное отклонение приведенной переменной состояния при оценке с применением функции калибровки.

Примечание 1 — При необходимости в качестве оценки прецизионности вместо стандартного отклонения может быть использован коэффициент вариации.

Примечание 2 — В настоящем стандарте прецизионность определена в условиях повторяемости (ИСО 3534-2).

Примечание 3 — В настоящем стандарте использованы термины «прецизионность» и «функция прецизионности» вместо терминов «погрешность» и «функция погрешности».

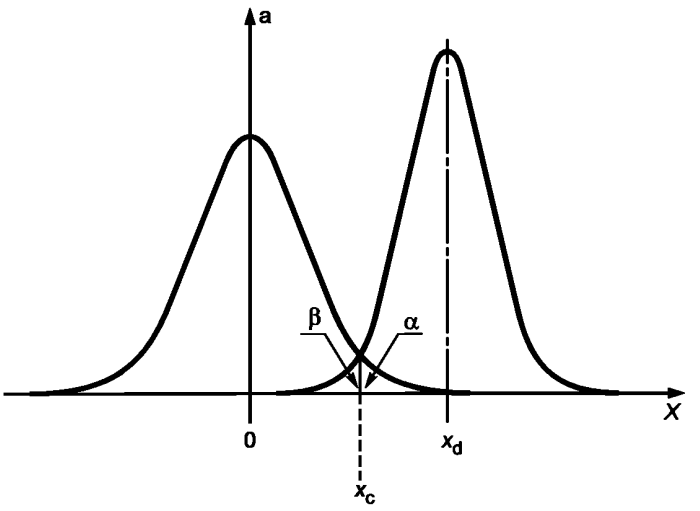
3.4 **функция прецизионности** (способности обнаружения) (precision profile): Математическое описание стандартного отклонения или коэффициента вариации отклика или приведенной переменной состояния как функции приведенной переменной состояния.

3.5 **отклик** (response variable); Y: Переменная, представляющая результат эксперимента.

[ИСО 3534-3:1999, 1.2]

Примечание 1 — В стандартах серии ИСО 11843 под откликом следует понимать непосредственно наблюдаемую переменную взамен переменной состояния Z.

Примечание 2 — Отклик Y является случайной величиной, представляющей собой результат преобразования с помощью функции калибровки приведенной переменной состояния. Прецизионность отклика описывают с помощью стандартного отклонения $\sigma_X(X)$ и коэффициента вариации $\rho_X(X)$ приведенной переменной состояния соответственно.



x_c — критическое значение приведенной переменной состояния; x_d — минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния; X — приведенная переменная состояния; α — вероятность ошибки первого рода для $X = 0$; β — вероятность ошибки второго рода для $X = x_d$; a— плотность распределения.

Примечание — На рисунке 1 ИСО 11843-1:1997 показаны плотности распределения отклика и нелинейная функция калибровки. На рисунке 1 настоящего стандарта показаны плотности распределения приведенных переменных состояния, полученные из распределений отклика с учетом функции калибровки, изображенных на рисунке 1 ИСО 11843-1.

Рисунок 1 — Плотности распределения приведенной переменной состояния для $X = 0$ (слева) и для $X = x_d$ (справа)

3.6 **функция прецизионности отклика** (precision profile of response variable): Непрерывная функция (в настоящем стандарте), построенная на основе данных о неопределенности отклика, являющейся следствием случайных свойств этапов аналитических исследований (например отбор растворов пипеткой), но не систематической погрешности, часто характеризующей особенности и недостатки применяемых инструментов.

3.7 **приведенная переменная состояния** (net state variable); X: Разность между переменной состояния Z и ее значением в базовом состоянии z_0.

[ИСО 11843-1:1997, определение 4]

Примечание — Приведенная переменная состояния X является детерминированной (неслучайной) величиной на этапе, когда линия калибровки построена, а функция прецизионнности в виде $\sigma_X(X)$ и $\rho_X(X)$ является следствием случайности отклика.

4 Функция прецизионности приведенной переменной состояния

Для экспериментальных или теоретических целей определяют прецизионность (стандартное отклонение или коэффициент вариации) отклика Y (а не приведенной переменной состояния X). Поэтому каждое значение Y должно быть преобразовано к соответствующему значению X и соответственно преобразована прецизионность (см. рисунок 2 и [1], [2]).

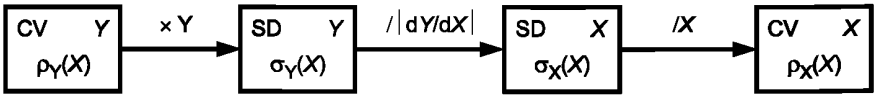


Рисунок 2 — Схема преобразования неопределенности отклика в неопределенность приведенной переменной состояния

На рисунке 3 показано преобразование стандартного отклонения отклика $\sigma_Y(X)$ в стандартное отклонение приведенной переменной состояния $\sigma_X(X)$ с помощью абсолютной величины производной функции калибровки $|dY/dX|$: $\sigma_X(X) = \sigma_Y(X)/|dY/dX|$. Аналогичное преобразование для коэффициента вариации $\rho_X(X)$ может быть записано в виде

$$\rho_X(X) = \frac{\rho_Y(X)Y}{X\left|\frac{dY}{dX}\right|}. \quad (1)$$

Уравнение (1) описывает связь коэффициента вариации $\rho_Y(X)$ как функции X с коэффициентом вариации $\rho_X(X)$. Использование абсолютной величины $|dY/dX|$ позволяет применять настоящий стандарт к монотонно убывающим функциям калибровки.

Примечание 1 — Если функция калибровки является прямолинейной и проходит через начало координат ($Y = aX$), прецизионность $\rho_X(X)$ приведенной переменной состояния равна функции прецизионности отклика $\rho_Y(X)$. Следует отметить, что $Y/X = |dY/dX| = a$, так как $Y = aX$.

Примечание 2 — Уравнение (1) не применимо для $X = 0$, но охватывает большую часть ситуаций, когда коэффициент вариации $\rho_X(X)$ стремится к бесконечности при уменьшении X до тех пор, пока стандартное отклонение $\sigma_X(X)$ для приведенной переменной состояния конечно ($\sigma_X(X) = \rho_Y(X)Y/|dY/dX|$).

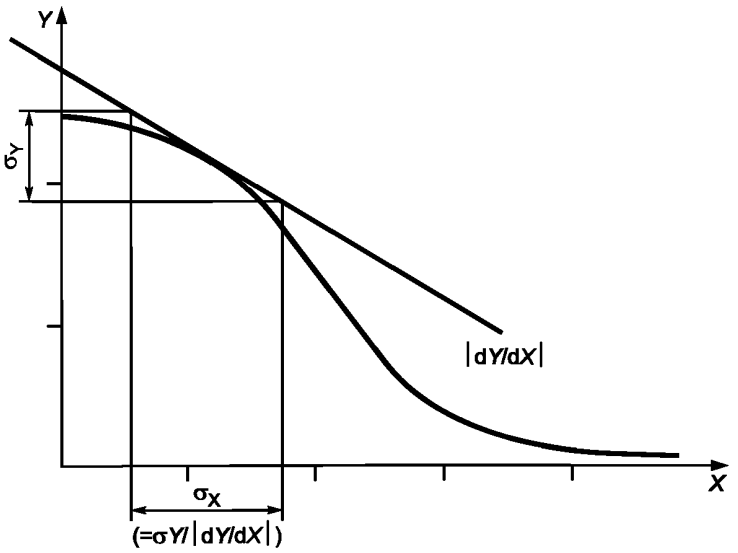


Рисунок 3 — Преобразование стандартного отклонения отклика σ_Y в стандартное отклонение приведенной переменной состояния σ_X с помощью абсолютной величины производной функции калибровки $|dY/dX|$

5 Критическое значение и минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния

5.1 Общие положения

Все используемые ниже выводы основаны на знании распределения приведенной переменной состояния. Критическое значение x_c имеет вид

$$x_c = k_c\,\sigma_X(0), \quad (2)$$

где k_c — коэффициент для определения α;

$\sigma_X(0)$ — стандартное отклонение для $X = 0$.

При использовании соотношения $\sigma_X(0) = \sigma_Y(0)/|dY/dX|$ уравнение (2) может быть записано в виде $x_c = k_c\sigma_Y(0)/|dY/dX|$. Минимальное обнаруживаемое значение x_d в этом случае принимает вид

$$x_d = x_c + k_d\,\sigma_X(x_d), \quad (3)$$

где k_d — коэффициент для определения β;

$\sigma_X(x_d)$ — стандартное отклонение для $X = x_d$ (см. рисунок 1).

Для определения критического значения x_c и минимального обнаруживаемого значения x_d необходимо знание функции прецизионности $\sigma_X(X)$ (см. 3.4).

Примечание 1 — Если приведенная переменная состояния подчиняется нормальному распределению, коэффициенты $k_c = k_d = 1{,}65$ соответствуют $\alpha = \beta = 0{,}05$ (5 %).

Примечание 2 — В случае предположения о том, что $\sigma_X(X)$ является константой ($\sigma_X(X) = \sigma_X$) и $k_c = k_d = 1{,}65$, уравнения (2) и (3) могут быть записаны в виде $x_c = 1{,}65\,\sigma_X$ и $x_d = 3{,}30\,\sigma_X$.

5.2 Вычисление вероятности α

Если стандартное отклонение определяют для $X = 0$, то вместо $\sigma_X(x_d)$ используют $\sigma_X(0)$, тогда x_c и x_d принимают вид

$$x_c = k_c\sigma_X(0), \tag{4}$$

$$x_d = (k_c + k_d)\sigma_X(0). \tag{5}$$

В этом случае уравнение (4) совпадает с уравнением (2) и вероятность α вычисляют в соответствии с ее общим определением. Однако вероятность β может отличаться от исходной. Для этих вычислений знание всей функции прецизионности $\sigma_X(X)$ не требуется.

Примечание — В случае предположения о том, что $\sigma_X(X)$ является константой ($\sigma_X(X) = \sigma_X$) и $k_c = k_d = 1{,}65$, уравнения (4) и (5) могут быть записаны в виде $x_c = 1{,}65\sigma_X$ и $x_d = 3{,}30\sigma_X$.

5.3 Вычисление вероятности β

При использовании $\sigma_X(x_d)$ вместо $\sigma_X(0)$ в 5.2 выражения для x_c и x_d принимают вид

$$x_c = k_c\sigma_X(x_d), \tag{6}$$

$$x_d = (k_c + k_d)\sigma_X(x_d). \tag{7}$$

В этом случае вероятность β вычисляют в соответствии с ее общим определением. Вероятность α может отличаться от исходной.

Примечание — В случае предположения о том, что $\sigma_X(X)$ является константой ($\sigma_X(X) = \sigma_X$) и $k_c = k_d = 1{,}65$, уравнения (6) и (7) могут быть записаны в виде $x_c = 1{,}65\,\sigma_X$ и $x_d = 3{,}30\,\sigma_X$.

5.4 Дифференциальный метод

Подход 5.3 имеет практическое преимущество при использовании уравнения (10). Уравнение (7) может быть записано в виде

$$\rho_X(x_d) = \sigma_X(x_d)/x_d = 1/(k_c + k_d). \tag{8}$$

Это уравнение дает коэффициент вариации приведенной переменной состояния для $X = x_d$. Преимущество уравнения (8) состоит в том, что минимальное обнаруживаемое значение x_d может быть определено как значение приведенной переменной состояния, у которой коэффициент вариации для среднего приведенной переменной состояния равен $1/(k_c + k_d)\cdot 100$ %. Для вычисления x_c и x_d необходимо, чтобы функция прецизионности $\sigma_X(X)$ была непрерывной.

Для полулогарифмического графика (Y от $\lg X$) угловой коэффициент функции калибровки $dY/d\lg X$ зависит от приведенной переменной состояния X и принимает установленное значение для минимального обнаруживаемого значения

$$\left|\frac{dY}{d\lg X}\right|_{X=x_d} = 2{,}303(k_c + k_d)\sigma_Y(x_d), \tag{9}$$

где левая часть уравнения представляет собой абсолютную величину производной $|dY/d\lg X|$ для $X = x_d$ ($\ln 10 = 2{,}303$). Это уравнение является общим для кривых калибровки независимо от вида функции калибровки (линейной или нелинейной). Обоснование уравнения (9) приведено в приложении В.

Примечание 1 — Если $k_c = k_d = 1{,}65$, уравнение (8) может быть записано в виде $\sigma_X(X) = 1/3{,}30 = 30$ %, а x_d расположено в точке X, для которой коэффициент вариации составляет 30 %.

Примечание 2 — Если $k_c = k_d = 1{,}65$, уравнение (9) может быть записано в виде

$$\left|\frac{dY}{d\lg X}\right|_{X=x_d} = \frac{\sigma_Y(x_d)}{0{,}132}, \tag{10}$$

где $0{,}132 = 1/(3{,}3\times 2{,}303)$.

6 Примеры

6.1 Общие положения

В подпунктах 6.2 и 6.3 рассмотрены примеры оценки функции прецизионности (см. 3.4) в виде стандартного отклонения или коэффициента вариации отклика. Итоговое значение $\rho_X(X)$ получено на основе непрерывного графика стандартного отклонения или коэффициента вариации отклика в соответствии с разделом 4.

В примере пункта 6.4 показано применение дифференциального метода в случае конкурентного иммуноферментного анализа ELISA. Пример показывает, что функция калибровки для конкурентного иммуноферментного анализа ELISA обычно нелинейна, но предположение о линейности может быть использовано в окрестностях минимального обнаруживаемого значения.

6.2 Закон распространения неопределенности

Конкурентный иммуноферментный анализ ELISA для 17-гидроксипрогестерона использован в качестве примера. Экспериментальная процедура ELISA представлена на рисунке 4. Анализ выполнен на микропланшете с 96-ю ячейками. Линия калибровки построена для микропланшета, а фактический анализ образцов выполнен на других ячейках того же самого микропланшета. Здесь проверяется неопределенность в пределах планшета.

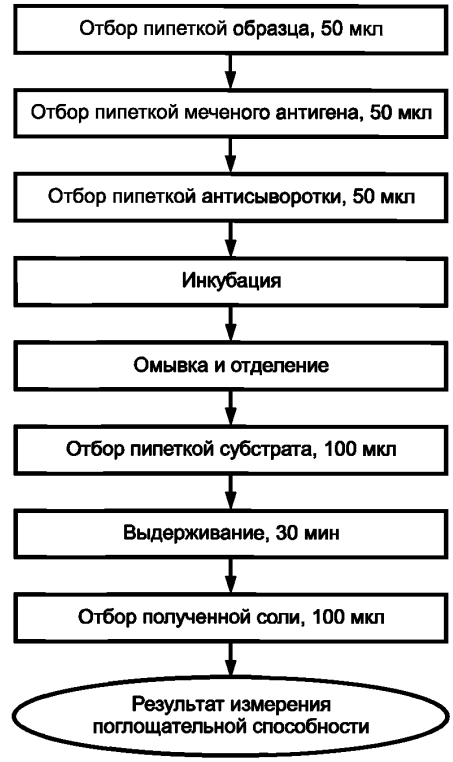


Рисунок 4 — Экспериментальная процедура ELISA

Неопределенность конкурентного иммуноферментного анализа ELISA получена на основе конкурентной реакции между веществом проб и меченым антигеном. Отклик Y (здесь результатом измерений является поглощательная способность) пропорционален концентрации меченого антигена и антител (антисыворотка) на поверхности ячейки в микропланшете (см. [1])

$$Y \propto \frac{G}{X+G} B,$$

где X — объем пробы (приведенная переменная состояния);

G — количество меченого антигена;

B — количество антител.

На основе применения закона распространения неопределенности (см.[3]) к процедуре анализа может быть получен квадрат коэффициента вариации $\rho_Y(X)^2$ отклика Y (см. [1])

$$\rho_Y(X)^2 = \frac{X^2}{(X+G)^2} + \left(r_G^2 + r_X^2\right) + r_B^2 + r_S^2 + \left(\frac{\sigma_W}{Y}\right)^2, \quad (11)$$

где X — объем пробы (приведенная переменная состояния);

Y — результат измерений поглощательной способности (отклик), который может быть заменен соответствующим значением функции калибровки;

G — количество меченого антигена (0,1 мкг/л);

r_X — коэффициент вариации отобранного пипеткой объема пробы (0,9 %);

r_G — коэффициент вариации отобранного пипеткой меченого антигена (0,9 %);

r_B — коэффициент вариации отобранного пипеткой объема антисыворотки (1,9 %);

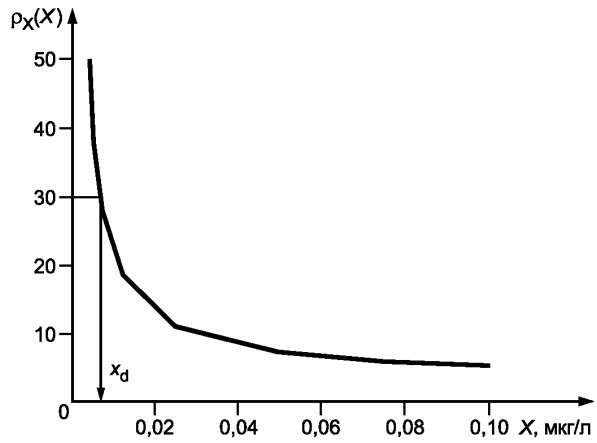
r_S — (2/3)·(коэффициент вариации отобранного пипеткой объема субстратов хромогена), где коэффициент 2/3 использован для преобразования ошибки отобранного пипеткой объема в ошибку, соответствующую количеству хромогенного продукта, появляющегося на поверхности ячейки в микропланшете (0,6 %);

σ_W — стандартное отклонение результатов измерений поглощательной способности среди ячеек микропланшета и является постоянной в пределах планшета (0,002 поглощательной способности).

Таким образом, функция прецизионности $\rho_X(X)$ может быть вычислена по уравнению (11) в соответствии со схемой, представленной на рисунке 2.

Функция прецизионности $\rho_X(X)$ для данного примера приведена на рисунке 5. Коэффициент вариации $\rho_X(X)$ вычислен по уравнению (11) с фактическими параметрами, описанными выше, и выражен в процентах. В случае 5.3 минимальное обнаруживаемое значение x_d может быть определено на графике функции прецизионности (см. рисунок 5, стрелка x_d). Значение 30 %-ного коэффициента вариации описано в п. 5.4 примечание 1.

Функции прецизионности в нормальном и полулогарифмическом масштабе дают одно и то же минимальное обнаруживаемое значение. На рисунке 5 b) не показана точка для $X = 0$ и соответствующее значение коэффициента вариации. Однако данная ситуация не направлена на решение теоретических или практических проблем, а сводится лишь к определению коэффициента вариации в виде функции прецизионности в окрестности минимального обнаруживаемого значения.



а) Нормальный масштаб

Рисунок 5 — Коэффициент вариации приведенной переменной состояния $\rho_X(X)$ (функция прецизионности) и минимальное обнаруживаемое значение x_d в нормальном и полулогарифмическом масштабе для конкурентного иммуноферментного анализа ELISA (Лист 1)

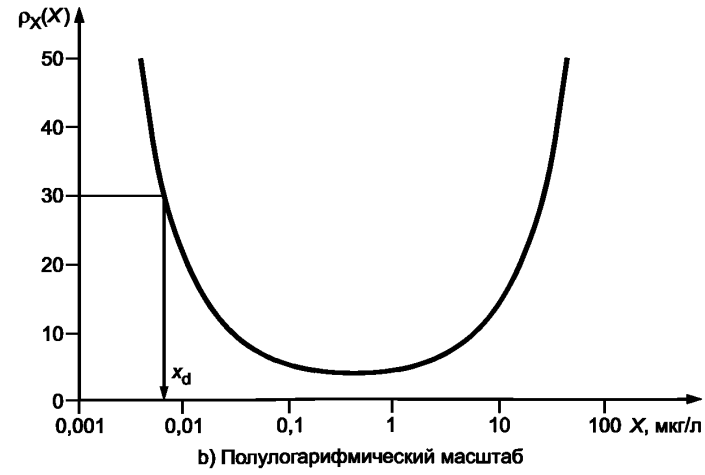


Рисунок 5 — Лист 2

6.3 Выбор модели

В иммунологических исследованиях дисперсия отклика может быть аппроксимирована степенной функцией (см. [2])

$$\sigma_Y(X)^2 \propto Y^j, \tag{12}$$

где $\sigma_Y(X)$ — стандартное отклонение отклика Y. Если $j = 0$, то дисперсия постоянна. Если $j = 1$, дисперсия пропорциональна отклику. Если $j = 2$, коэффициент вариации $\rho_Y(X)$ отклика постоянен, коэффициент пропорциональности может быть определен методом наименьших квадратов.

6.4 Применение конкурентного иммуноферментного анализа ELISA

В конкурентном иммуноферментном анализе ELISA часто используют стандартизованную кривую калибровки, называемую B/B_0, и уравнение (10), которое может быть записано в виде (см. [4])

$$\left| d\left(\frac{1}{1+\left(\frac{X}{c_2}\right)^{c_1}} \right) \Big/ d\lg X \right|_{X=x_d} = \frac{\rho_Y(x_d)}{0{,}132}, \tag{13}$$

где $\rho_Y(x_d)$ — коэффициент вариации отклика для $X = x_d$. Обоснование приведено в приложении С.

Минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния может быть найдено с использованием уравнения (13). На рисунке 6 приведена полулогарифмическая кривая B/B_0 для анализа конкурентным ELISA 17-гидроксипрогестерона (то же, что в примере 6.2). Если коэффициент вариации отклика должен составлять 1,9 %, коэффициент вариации для пробы с низкой концентрацией используют в качестве приближения [$\approx \rho_Y(x_d)$]. Уравнение (13) в этом случае дает результат 0,15 (= 0,019/0,132).

Графическая оценка x_d (см. рисунок 6):

- Этап 1. Проводят прямую линию с угловым коэффициентом, вычисленным по уравнению (13) в левосторонней системе координат;
- Этап 2. Проводят касательную к кривой B/B_0 параллельно прямой, построенной на этапе 1;
- Этап 3. Опускают перпендикуляр из точки касания на ось X.

Точка пересечения перпендикуляра с осью X соответствует x_d. Метод обеспечивает почти такой же результат, как в примере 6.2 (рисунки 5 и 6).

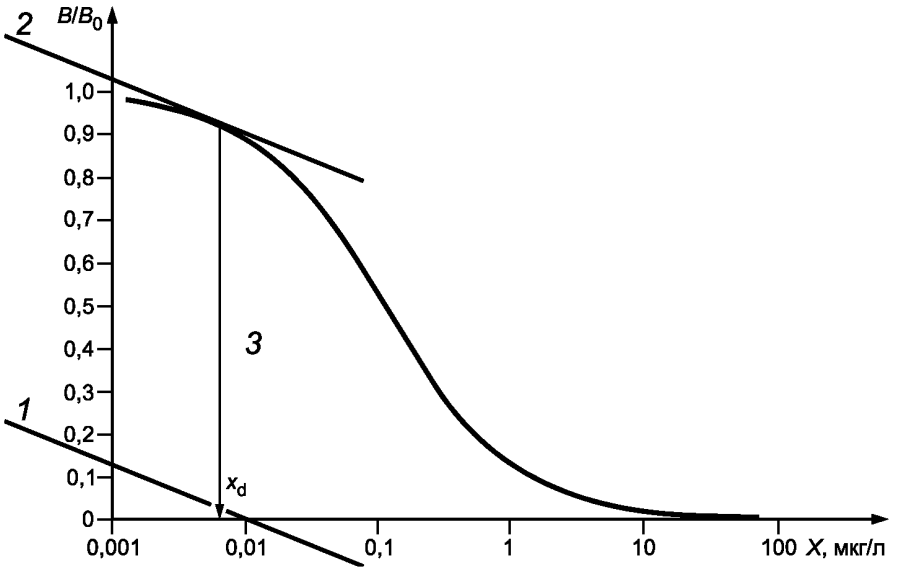


Рисунок 6 — Полулогарифмический график кривой B/B_0 для конкурентного иммуноферментного анализа ELISA 17- гидроксипрогестерона

Приложение А
(обязательное)

Условные обозначения и сокращения, используемые в стандарте

SD — стандартное отклонение;

CV — коэффициент вариации (SD, деленное на среднее);

POP — стойкий органический загрязнитель;

ELISA — иммуноферментный анализ;

X — приведенная переменная состояния;

Y — отклик;

x_c — критическое значение приведенной переменной состояния;

x_d — минимальное обнаруживаемое значение приведенной переменной состояния;

k_c — коэффициент для определения α;

k_d — коэффициент для определения β;

α — вероятность ошибки первого рода для $X = 0$;

β — вероятность ошибки второго рода для $X = x_d$;

$\sigma_Y(X)$ — стандартное отклонение отклика как функция X;

$\rho_Y(X)$ — коэффициент вариации отклика как функция X;

$\sigma_X(X)$ — стандартное отклонение приведенной переменной состояния как функция X;

$\rho_X(X)$ — коэффициент вариации приведенной переменной состояния как функция X;

$|dY/dX|$ — производная функции калибровки;

B/B_0 — отношение результатов измерений для произвольной концентрации к результатам измерений для нулевой концентрации.

Приложение В
(справочное)

Обоснование уравнения (9)

Для преобразования уравнения (7) может быть использовано уравнения (1) с учетом перехода к lg$X$

$$\sigma_X(X) = \frac{\sigma_Y(X)}{\left|\frac{dY}{dX}\right|},$$

$$x_d = (k_c + k_d)\frac{\sigma_Y(x_d)}{\left|\frac{dY}{dX}\right|_{X=x_d}} = (k_c + k_d)\frac{\sigma_Y(x_d)}{\left|\frac{dY}{d\ln X}\right|_{X=x_d}\frac{1}{x_d}} = (k_c + k_d)\frac{\sigma_Y(x_d)x_d}{\left|\frac{dY}{d\ln X}\right|_{X=x_d}},$$

где абсолютное значение производной используют в случае, когда угловой коэффициент отрицателен. Деление на неизвестную переменную x_d обеих частей этого уравнения дает уравнение

$$\left|\frac{dY}{d\ln X}\right|_{X=x_d} = (k_c + k_d)\sigma_Y(x_d).$$

Преобразование натурального логарифма в десятичный логарифм ($\ln X = 2{,}303 \cdot \lg X$) приводит к искомому уравнению (9) (см. [4]).

Приложение С
(справочное)

Обоснование уравнения (13)

В конкурентном иммуноферментном анализе ELISA кривая калибровки представляет собой логистическую функцию четырех параметров

$$Y = \frac{C_0 - C_3}{1 + \left(\frac{X}{C_2}\right)^{C_1}} + C_3$$

и в стандартизованной форме имеет вид B/B_0

$$\frac{B}{B_0} = \frac{1}{1 + \left(\frac{X}{C_2}\right)^{C_1}},$$

где C_0, C_1, C_2 и C_3 — коэффициенты, определяемые методом наименьших квадратов, соответствующие реальным данным при калибровке. Подставляя $dY = (C_0 — C_3)\, dB/B_0$ в уравнение (10), получаем

$$\left|\frac{dB/B_0}{d\lg X}\right| = \frac{\sigma_Y(X)/(C_0 - C_3)}{0{,}132}.$$

Так как коэффициент C_0 соответствует наибольшему отклику для пустой пробы ($X = 0$), а C_3 – наименьшему отклику при бесконечной концентрации ($X = \infty$), $\sigma_Y(X)/(C_0 — C_3)$ приблизительно равно $\sigma_Y(X)/C_0$. Если $\rho_Y(X)$ имеет вид

$$\rho_Y(X) = \frac{\sigma_Y(X)}{C_0 - C_3} \approx \frac{\sigma_Y(X)}{C_0},$$

где $\sigma_Y(X)/C_0$ — коэффициент отклика для пустой пробы $\rho_Y(0)$, то последние два уравнения приводят к уравнению (13) (см. также [4]).

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ISO 3534-1	—	*
ISO 3534-2	—	*
ISO 3534-3	—	*
ISO 5725-1	IDT	ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения»
ISO 11843-1:1997	IDT	ГОСТ Р ИСО 11843-1—2007 «Статистические методы. Способность обнаружения. Часть 1. Термины и определения»
ISO 11843-2:2000	IDT	ГОСТ Р ИСО 11843-2—2007 «Статистические методы. Способность обнаружения. Часть 2. Методология в случае линейной калибровки»

* Соответствующий национальный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов:

IDT — идентичные стандарты.

Библиография

[1] HAYASHI, Y., MATSUDA, R., MAITANI, T., IMAI, K., NISHIMURA, W., ITO, K. and MAEDA, M. Precision, limit of detection and range of quantitation in competitive ELISA. *Anal. Chem.*, 76(5), 2004, pp. 1 295—1 301

[2] DUDLEY, R.A., EDWARDS, P., EKINS, R.P., FINNEY, D.J., MCKENZIE, I.G.M., RAAB, G.M., RODBARD, D. and RODGERS, R.P.C. Guidelines for immunoassay data processing. *Clin. Chem.*, 31(8), 1985, pp. 1 264—1 271

[3] Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM), BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1993)[1)]

[4] HAYASHI, Y., MATSUDA, R., ITO, K., NISHIMURA, W., IMAI, K. and MAEDA, M. Detection limit estimated from slope of calibration curve: An application to competitive Elisa. *Anal. Sci.*, 21, 2005, pp. 167—169

[5] ISO 3534-3:1999, Statistics — Vocabulary and symbols — Part 3: Design of experiments (ИСО 3534-3:1999 Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 3. Планирование эксперимента)[2)]

---

1) Стандарт заменен на ISO/IEC Guide 98-3:2008, Uncertainty of measurement - Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995), которому соответствует национальный стандарт ГОСТ Р 54500.3–2011/ Руководство ИСО/МЭК 98-3:2008 Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения.

2) Официальный перевод этого стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

УДК 658.562.012.7:65.012.122:006.354

ОКС 03.120.30;
17.020

Ключевые слова: измерение, отклик, стандартное состояние, базовое состояние, приведенная переменная состояния, калибровка, критическое значение отклика, ошибка первого рода

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 27.03.2019. Подписано в печать 29.04.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,80.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru