

# **BIOSENSORS**

**AN INTRODUCTION**

# What are Sensors?

**Nose! Tongue! Ears! Eyes! Fingers!**

- Sensors can give qualitative or quantitative analysis

**Table 1.1 Test for acids and alkalis**

<b>SENSOR</b>	<b>SENSING ELEMENT</b>	<b>QUALITATIVE</b>	<b>QUANTITATIVE</b>
<b>pH indicator solutions</b>	<b>Complex mixture of chemical dyes</b>	<b>Colour change</b>	<b>Semi-quantitative?</b>
<b>pH meter</b>	<b>Glass membrane electrode (pH meter)</b>		<b>Digital display (pH value)</b>

# Οι αισθητήρες μπορούν να χωριστούν σε τρεις τύπους

- α. φυσικοί αισθητήρες - απόσταση, μάζα, θερμοκρασία κ.λπ.
- β. χημικοί αισθητήρες - μετρούν χημική ένωση (αναλύτη) με χημικό ή φυσικό τρόπο (π.χ. pHμετρο)
- γ. βιοαισθητήρες - μετρούν έναν αναλύτη χρησιμοποιώντας βιολογικά αισθητήριακά στοιχεία ή βιολογικό στοιχείο
- \*\* Όλες αυτές οι συσκευές πρέπει να συνδέονται με έναν μετατροπέα, έτσι ώστε να εμφανίζεται μια ορατή απόκριση ή ένα σημάδι.

# Τι είναι ο βιοαισθητήρας;

- Οι βιοαισθητήρες είναι σε θέση να παρέχουν ποιοτικά ή ποσοτικά αποτελέσματα.
- Οι βιοαισθητήρες λειτουργούν με τη σύζευξη ενός στοιχείου βιολογικής ανίχνευσης με ένα σύστημα ανιχνευτή χρησιμοποιώντας έναν μετατροπέα.
- Ονομασία IUPAC\*: Μια συσκευή που χρησιμοποιεί συγκεκριμένες βιοχημικές αντιδράσεις που προκαλούνται από απομονωμένα ένζυμα, ανοσοσυστήματα, ιστούς, οργανίδια ή ολόκληρα κύτταρα για την ανίχνευση χημικών ενώσεων συνήθως με ηλεκτρικά, θερμικά ή οπτικά σήματα ».

\* Διεθνής Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας

# What is a Biosensor?

- Το στοιχείο βιολογικής ανίχνευσης πρέπει να συνδεθεί με έναν μετατροπέα ο οποίος εμφανίζει οπτικά παρατηρήσιμη απόκριση.
  - Στην περίπτωση του pHμετρου, πρέπει να μετατραπεί η ηλεκτρική απόκριση (αλλαγή τάσης), σε κίνηση μιας βελόνας μέτρησης ή σε ψηφιακή απεικόνιση).
- Οι βιοαισθητήρες ασχολούνται με την ανίχνευση και τη μέτρηση συγκεκριμένων χημικών ουσιών (αναλυτών) οι οποίες δεν είναι απαραίτητα βιολογικά συστατικά.

1916	First report on the immobilisation of proteins: adsorption of invertase on activated charcoal
1922	First glass pH electrode
1956	Invention of the oxygen electrode
1962	First description of a biosensor: an amperometric enzyme electrode for glucose
1969	First potentiometric biosensor: urease immobilised on an ammonia electrode to detect urea
1970	Invention of the Ion-Selective Field-Effect Transistor (ISFET)
1972/ 5	First commercial biosensor: Yellow Springs Instruments glucose biosensor
1975	First microbe-based biosensor First immunosensor: ovalbumin on a platinum wire Invention of the pO <sub>2</sub> / pCO <sub>2</sub> optode
1976	First bedside artificial pancreas (Miles)
1980	First fibre optic pH sensor for <i>in vivo</i> blood gases
1982	First fibre optic-based biosensor for glucose
1983	First surface plasmon resonance (SPR) immunosensor
1984	First mediated amperometric biosensor: ferrocene used with glucose oxidase for the detection of glucose

1987	Launch of the MediSense ExacTech™ blood glucose biosensor
1990	Launch of the Pharmacia BIACore SPR-based biosensor system
1992	i-STAT launches hand-held blood analyser
1996	Glucocard launched
1996	Abbott acquires MediSense for \$867 million
1998	Launch of LifeScan FastTake blood glucose biosensor
1998	Merger of Roche and Boehringer Mannheim to form Roche Diagnostics
2001	LifeScan purchases Inverness Medical's glucose testing business for \$1.3billion
2003	i-STAT acquired by Abbott for \$392 million
2004	Abbott acquired Therasense for \$1.2 billion
2007	Glucotel a bluetooth enabled glucose meter launched

# Βιοαισθητήρες

## 1. Ο αναλύτης ή το υπόστρωμα

Κάθε ουσία που καταναλώνεται / παράγεται σε βιοχημική διεργασία μπορεί κατ' ουσίαν να αναλυθεί από έναν βιοαισθητήρα (αν μπορεί να κατασκευαστεί)

Π.χ .: σάκχαρα, ουρία, χοληστερόλη, γαλακτικό οξύ, παρακεταμόλη, αιθανόλη, ουρικό οξύ, φαινόλη



# Βιοαισθητήρες

## 2. Η βιολογική συνιστώσα

- Αλληλεπίδραση βιολογικού συστατικού με ένα υπόστρωμα ειδικό. Απαραίτητη η ειδικότητα της αλληλεπίδρασης ώστε να μην ανιχνεύονται παρόμοια υποστρώματα
- το βιολογικό συστατικό μπορεί να είναι : μικροοργανισμοί (ζύμη, βακτήρια, άλγη), ιστικό υλικό (ήπαρ, μπανάνα), αντισώματα και νουκλεϊνικά οξέα.

# Βιοαισθητήρες

## 3. Ακίνητοποίηση βιοσυστατικών

i. Προσρόφηση στην επιφάνεια

*απλούστερη μέθοδος/ ασθενής συγκόλληση*

ii. Μικροκαψυλιώσεις (*Microencapsulation*) ή παγίδευση μεταξύ μεμβρανών

*γλυκόζη, ηλεκτρόδιο οξυγόνου, ουρία, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>*

iii. Εγκλωβισμός. Βιοσυστατικό παγιδευμένο σε μήτρα ζελέ / πάστα / πολυμερές (*bananatrode*)

*δημοφιλής μέθοδος.*

iv. Ομοιοπολική προσκόλληση. Ομοιοπολικοί χημικοί δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ της επιφάνειας του βιοσυστατικού και του μετατροπέα.

# Βιοαισθητήρες

## 3. Ακίνητοποίηση βιοσυστατικών

i. Προσρόφηση στην επιφάνεια

*απλούστερη μέθοδος/ ασθενής συγκόλληση*

ii. Μικροκαψυλιώσεις (*Microencapsulation*) ή παγίδευση μεταξύ μεμβρανών

*γλυκόζη, ηλεκτρόδιο οξυγόνου, ουρία, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>*

iii. Εγκλωβισμός. Βιοσυστατικό παγιδευμένο σε μήτρα ζελέ / πάστα / πολυμερές (bananatrode)

*δημοφιλής μέθοδος.*

iv. Ομοιοπολική προσκόλληση. Ομοιοπολικοί χημικοί δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ της επιφάνειας του βιοσυστατικού και του μετατροπέα.

# Βιοαισθητήρες

## 3. Ακίνητοποίηση βιοσυστατικών

- v. Cross-linking. Ένας παράγοντας με διττή λειτουργία (γλουταραλδεΰδη) που χρησιμοποιείται για τη χημική σύνδεση του βιοσυστατικού με τον μετατροπέα.

*Η μέθοδος βοηθά στη σταθεροποίηση των προσροφημένων ενζύμων. Χρησιμοποιείται επίσης με τη μέθοδο (ii).*

- vi. Ακίνητοποίηση βασιζόμενη στη συγγένεια.

*Έπια ακίνητοποίηση πρωτεϊνών. Μπορεί να επιτευχθεί με χρήση ετικετών συγγένειας (His-tag, Strep-tag κ.λπ.).*

# Βιοαισθητήρες

## 4. Μετατροπείς / Συσκευές ανιχνευτή

### ι. Ηλεκτροχημικοί μετατροπείς:

- α. **Ποτενσιομετρία:** η μέτρηση ενός κυτταρικού δυναμικού σε μηδενικό ρεύμα.
- β. **Βολταμετρία:** αυξανόμενο (ή μειούμενο) δυναμικό που εφαρμόζεται σε κύτταρο/ηλεκτρόδιο μέχρι την πλήρη οξείδωση (ή αναγωγή) της ουσίας. (μέτρηση ρεύματος σε σχέση με το δυναμικό)
- γ. **Αμπερομετρία:** Αν το δυναμικό οξείδωσης είναι γνωστό, μετράται το ρεύμα σε σχέση με το χρόνο.
- δ. **Αγωγιμομετρία:** μέτρηση της ευκολίας διέλευσης του ηλεκτρικού ρεύματος μέσω ενός διαλυματος.

# Βιοαισθητήρες

## 4. Μετατροπείς / Συσκευές ανιχνευτή

### ii. Οπτικοί μετατροπείς

απορρόφηση,  
χημειοφωταύγεια

φθορισμός,

βιοφωταύγεια,

### iii. Πιεζοηλεκτρικές συσκευές

Περιλαμβάνει παραγωγή ηλεκτρικού ρεύματος από δονούμενο κρύσταλλο. Η συχνότητα δόνησης μετράται και συσχετίζεται με την μετρούμενη ιδιότητα

### iv. Θερμικές μέθοδοι

Τέτοιες συσκευές όπως τα θερμίστορ μετρούν την παραγόμενη / προσροφημένη θερμότητα η οποία μπορεί στη συνέχεια να σχετίζεται με την μετρούμενη ιδιότητα σε μια αντίδραση.

# Βιοαισθητήρες

## 5. Παράγοντες απόδοσης βιοαισθητήρα

- i. **ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ:** Μέγιστη τιμή της γραμμικής καμπύλης βαθμονόμησης του αισθητήρα. Η γραμμικότητα του αισθητήρα πρέπει να είναι υψηλή για την ανίχνευση υψηλής συγκέντρωσης υποστρώματος.
- ii. **ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ – ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ:** η δυνατότητα διάκρισης μεταξύ διαφορετικών υποστρωμάτων. Το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό των βιοαισθητήρων.
  - Η παρεμβολή χημικών ουσιών πρέπει να ελαχιστοποιείται για τη λήψη του σωστού αποτελέσματος
- iii. **ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ:** μικρότερη δυνατή συγκέντρωση ουσίας που μπορεί η μέθοδος να αντιδιαστείλει από το μηδέν

# Βιοαισθητήρες

## 5. Παράγοντες απόδοσης βιοαισθητήρα

- iv. **Ακρίβεια:** - περίπου  $\pm 5\%$
- v. • **Φύση του διαλύματος:** pH, θερμοκρασία, ιοντική ισχύς
- vi. • **Χρόνος απόκρισης:** Ο απαραίτητος χρόνος για το 95% της απόκρισης (30s ή περισσότερο)
- vii. • **Χρόνος αποκατάστασης:** χρόνος πριν ο βιοαισθητήρας είναι έτοιμος να αναλύσει το επόμενο δείγμα. Δεν πρέπει να είναι περισσότερο από μερικά λεπτά.
- viii. • **Διάρκεια ζωής:** προσδιορίζεται από την αστάθεια του βιολογικού υλικού. Ποικίλλουν από λίγες μέρες σε λίγους μήνες. Ο βιοαισθητήρας γλυκόζης της Exactech μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περισσότερο από 1 χρόνο.





**Ονομαστική τιμή μιας μέτρησης  
και  
πραγματική τιμή μιας ιδιότητας**

- Η **αβεβαιότητα μέτρησης (MU)** παρέχει ποσοτικές εκτιμήσεις για τα επίπεδα εμπιστοσύνης ότι ένα εργαστήριο έχει την αναλυτική ακρίβεια των αποτελεσμάτων των δοκιμών του
- Η **αβεβαιότητα μέτρησης (MU)** είναι συνεπώς απαραίτητο συστατικό του ποιοτικού συστήματος των ιατρικών εργαστηρίων

---

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

## ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

---

- ✘ Η έννοια του σφάλματος μέτρησης εισήχθη διότι τα μελετώμενα χαρακτηριστικά στο χώρο της Επιδημιολογίας είναι κατά κανόνα βιολογικά, γεγονός που σημαίνει πως ανεξάρτητα από τη φύση τους, υπόκεινται εγγενώς στον κίνδυνο σφάλματος κατά τη μέτρηση τους.
- ✘ Με τον όρο σφάλμα μέτρησης νοείται κάθε απόκλιση της τιμής μιας (βιολογικής) μεταβλητής από την πραγματική τιμή, που δεν οφείλεται σε λάθος.
- ✘ Αφορά το σφάλμα σε κάποιο υπολογισμό ή σε κάποια εκτίμηση και αντιστοιχεί στη διαφορά ανάμεσα στην πραγματική τιμή και την τιμή που προκύπτει από την εκτίμηση ή τον υπολογισμό.



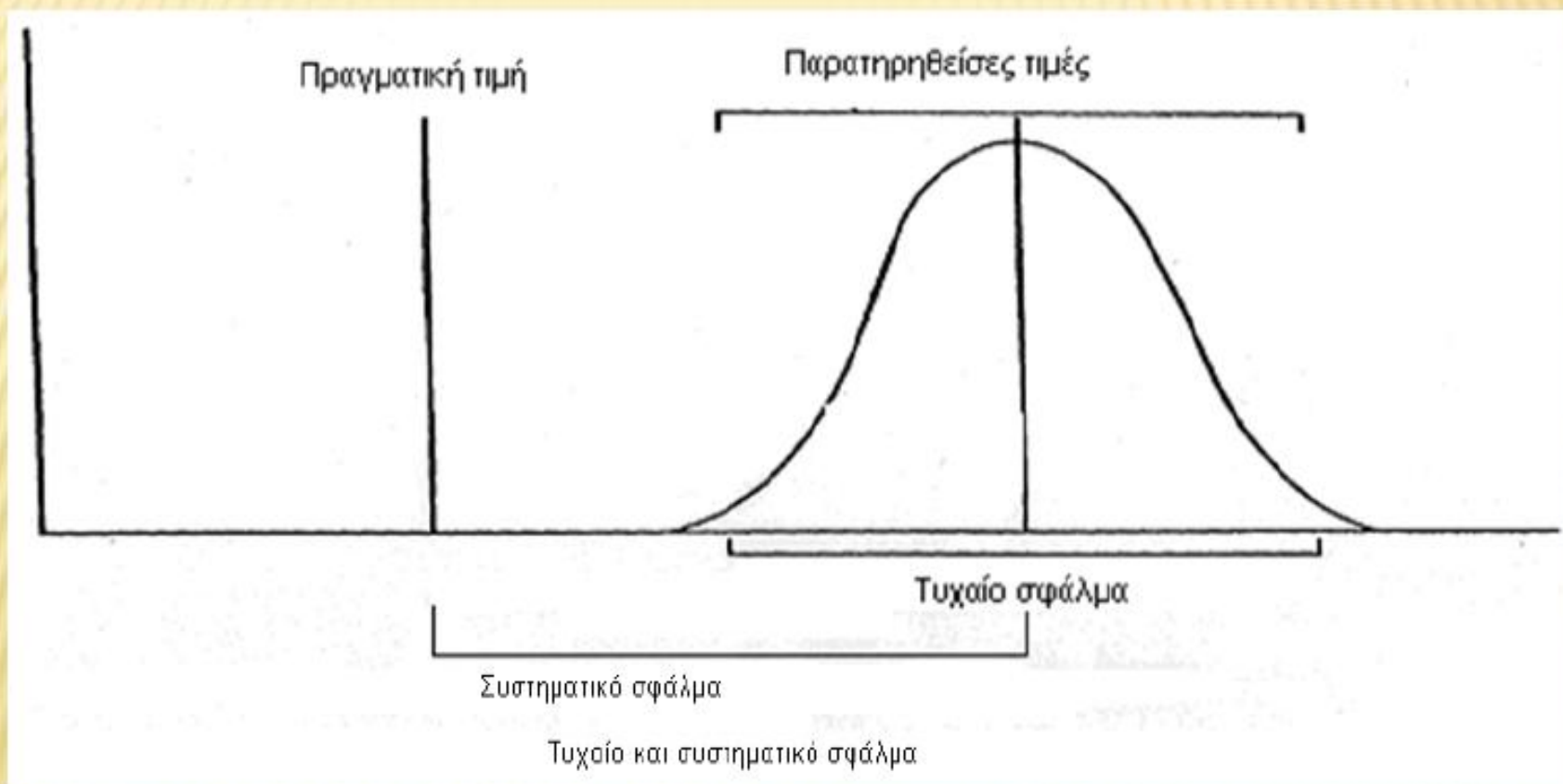
## ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

---

- ✘ **Τυχαία σφάλματα** (random error) : Διαφορά μεταξύ μιας εμπειρικής τιμής και της μέσης τιμής των εμπειρικών τιμών που προκύπτουν από έναν απεριόριστο αριθμό μελετών με την ίδια μέθοδο μέτρησης
- ✘ **Συστηματικά σφάλματα** (systematic error) : Διαφορά μεταξύ της πραγματικής τιμής και της μέσης τιμής των εμπειρικών τιμών που προκύπτουν από ένα απεριόριστο αριθμό μελετών με την ίδια μεθοδολογία
  - + συστηματικά σφάλματα επιλογής
  - + συστηματικά σφάλματα πληροφορίας
- ✘ **Σύγχυση** (confounding)

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

## Τυχαίο και συστηματικό σφάλμα



## ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

---

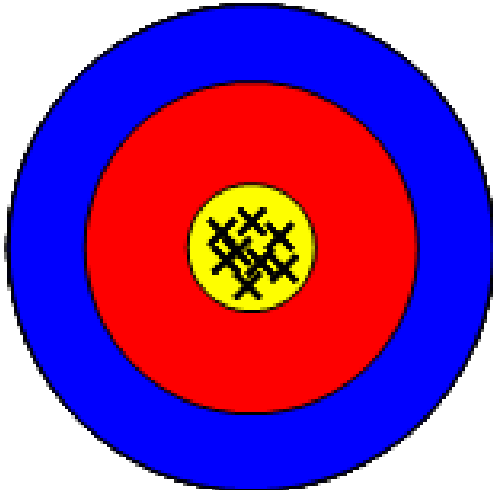
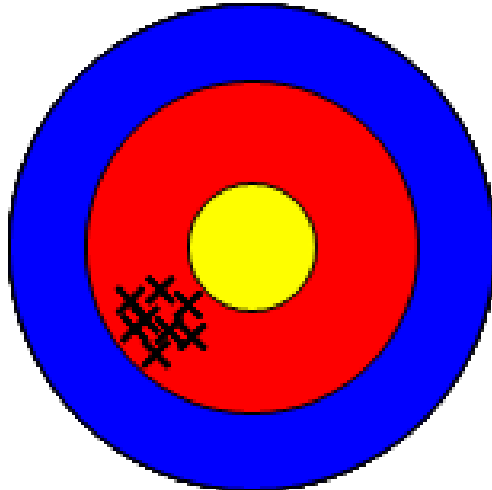
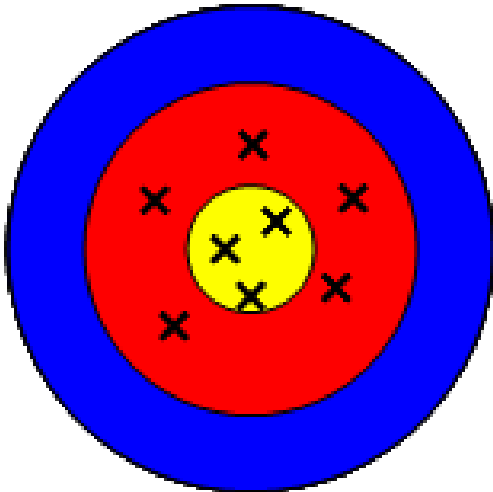
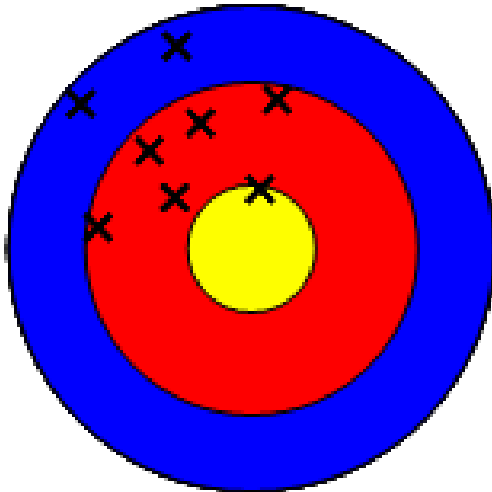
- ✘ Από τον παραπάνω ορισμό προκύπτει μια σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο τύπων σφάλματος.
- ✘ Ενώ για την εκτίμηση του **τυχαίου σφάλματος** απαιτούνται επανειλημμένες μετρήσεις και δεν είναι απαραίτητη η γνώση της πραγματικής τιμής, στην περίπτωση του **συστηματικού σφάλματος** απαιτείται είτε η γνώση της πραγματικής τιμής είτε η ύπαρξη μιας μεθόδου (μέθοδος αναφοράς ή χρυσός κανόνας) που θεωρείται πως μετρά την πραγματική τιμή.



Η ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ  
ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΠΑΙΤΕΙ:

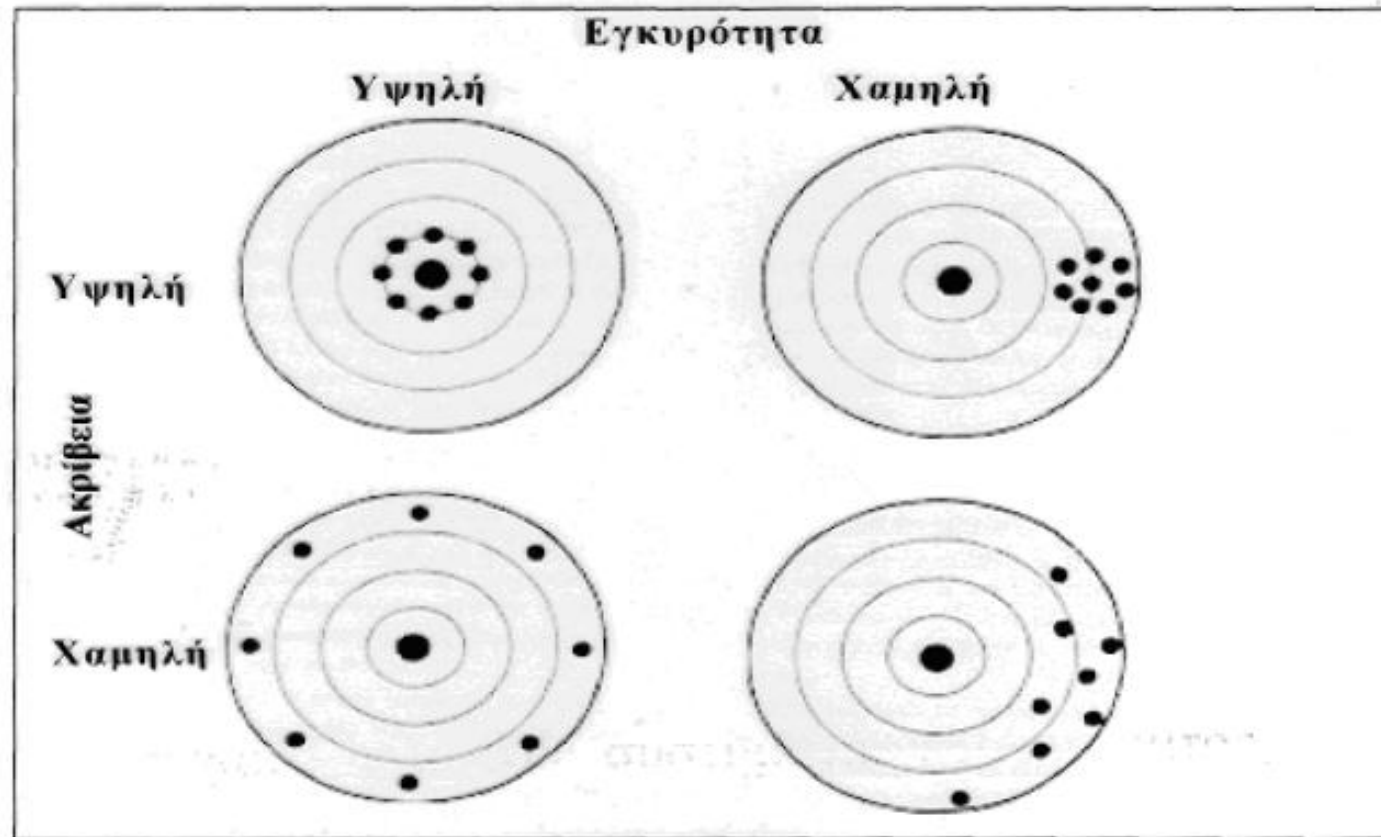
**ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ**  
**ΑΚΡΙΒΕΙΑ**  
**ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ**  
**ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ**

- **ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ:** προσδιορίζει αποκλειστικά μια ουσία και όχι άλλες παρόμοιες (π.χ. γλυκόζη και όχι φρουκτόζη)
- **ΑΚΡΙΒΕΙΑ:** μικρή απόκλιση από αληθή τιμή
- **ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ:** μικρή διασπορά τιμών
- **ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ:** μικρότερη δυνατή συγκέντρωση ουσίας που μπορεί η μέθοδος να αντιδιαστείλει από το μηδέν

	Accurate	Inaccurate (systematic error)
Precise	 A target with three concentric circles: a yellow center, a red middle ring, and a blue outer ring. Ten black 'x' marks are clustered tightly in the center yellow circle, indicating high precision and high accuracy.	 A target with three concentric circles: a yellow center, a red middle ring, and a blue outer ring. Ten black 'x' marks are clustered tightly in the lower-left quadrant of the red ring, indicating high precision but low accuracy (systematic error).
Imprecise (reproducibility error)	 A target with three concentric circles: a yellow center, a red middle ring, and a blue outer ring. Ten black 'x' marks are scattered across the red ring, but their average position is centered in the yellow circle, indicating low precision but high accuracy.	 A target with three concentric circles: a yellow center, a red middle ring, and a blue outer ring. Ten black 'x' marks are scattered across the red ring and the blue outer ring, indicating both low precision and low accuracy.

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Στόχος σκόπευσης



Συνδυασμοί υψηλής και χαμηλής ακρίβειας και εγκυρότητας.

## ΤΥΧΑΙΑ ΣΦΑΛΜΑΤΑ

Στον πίνακα φαίνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του ίδιου δείγματος με την ίδια μέθοδο από 4 διαφορετικούς εξεταστές.

Αναλυτικές και αντιπροσωπευτικές τιμές επανειλημμένων μετρήσεων του ίδιου δείγματος με την ίδια μέθοδο από 4 διαφορετικούς εξεταστές.

	Εξεταστές			
	A	B	Γ	Δ
	115	102	99	94
	115	106	100	81
	116	95	100	87
	115	99	100	90
	115	91	100	88
	116	100	101	96
	115	99	100	83
	116	108	100	89
	116	96	100	96
	115	104	100	86
η	(10)	(10)	(10)	(10)
x'	115,40	100,00	100,00	89,00
SD	0,52	5,21	0,47	5,14
CV	0,45%	5,21%	0,47%	5,77%

# ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΚΑΙ ΛΑΘΗ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

- Λάθη γραφειοκρατίας
- Λάθη δειγματοληψίας
- Λάθη ανάλυσης

# Τυχαία σφάλματα

- Αυξομείωση θερμοκρασίας , τάσης ρεύματος, διαφορές σε ογκομετρικά όργανα και μήκη κύματος φωτομέτρων
- Δεν διορθώνονται
- Αντιμετωπίζονται με στατιστικές μεθόδους

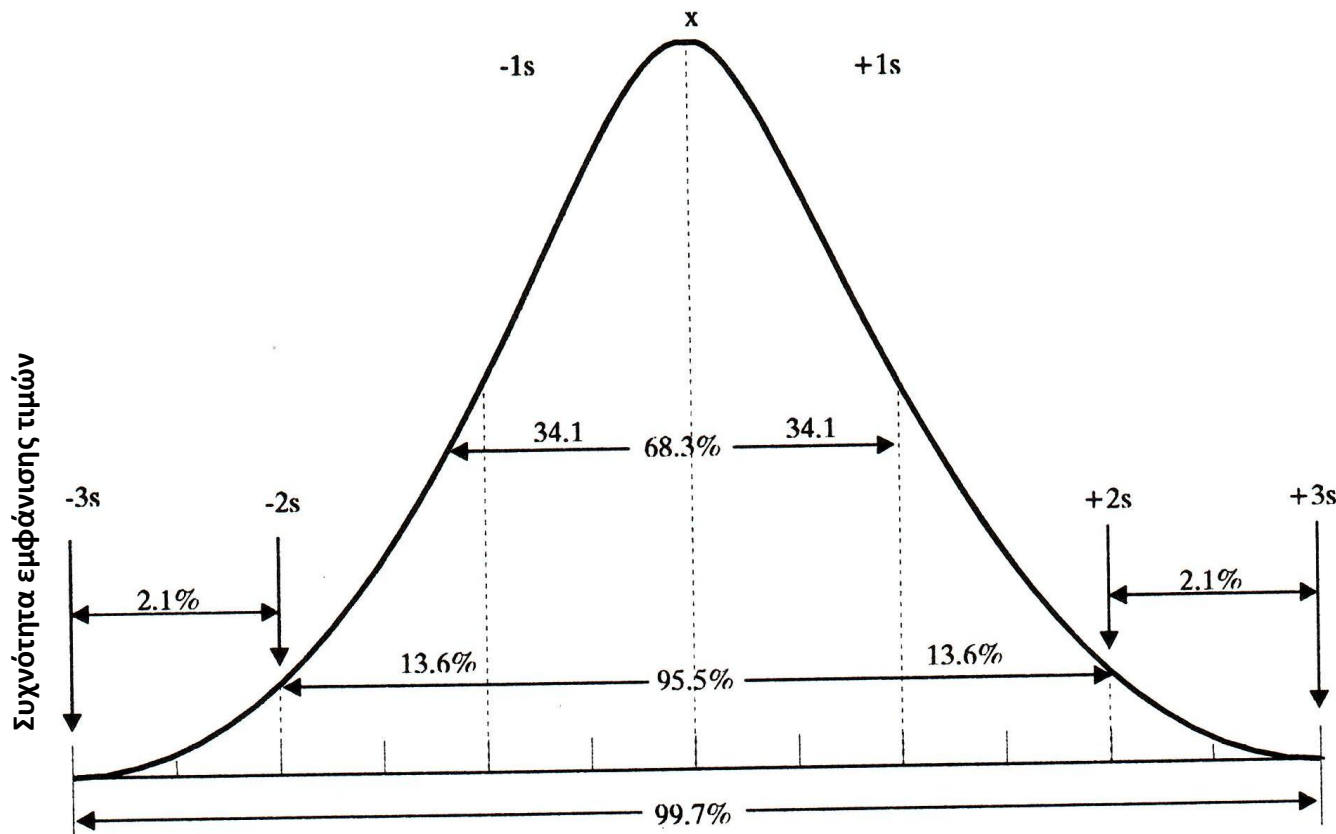
# Συστηματικά σφάλματα

- Οφείλονται σε όργανα και υλικά
- Οφείλονται στο χειριστή
- Η μέθοδος «οδηγού μαγειρικής» δεν έχει θέση στο Εργαστήριο Κλινικής Χημείας



# Είδος και τρόπος εντόπισης ενός αναλυτικού σφάλματος

Είδος σφάλματος	Τρόπος εντόπισης σφάλματος
<b><u>Τυχαίο σφάλμα:</u></b> μπορεί να είναι θετικό ή αρνητικό και επηρεάζει την επαναληπτικότητα της μεθόδου	<b><u>Με επαναλήψεις:</u></b> με επανειλημμένες μετρήσεις του ίδιου δείγματος, την ίδια μέρα στην ίδια σειρά προσδιορισμών και επί 20 διαφορετικές ημέρες
<b><u>Αναλογικό σφάλμα:</u></b> έχει πάντα την ίδια διεύθυνση και το μέγεθός του είναι ανάλογο της συγκέντρωσης που μετράται	<b><u>Με επανάκτηση</u></b> της ουσίας, αφού προστεθεί γνωστή, σταθερή ποσότητα καθαρού αναλύτη στο προς μέτρηση δείγμα που προσδιορίζεται συγχρόνως με την ίδια μέθοδο σε δείγμα χωρίς προσθήκη
<b><u>Σταθερό σφάλμα:</u></b> έχει ίδιο μέγεθος ασχέτως από τη συγκέντρωση της ουσίας	<b><u>Παρεμβολές</u></b> από π.χ. αιμοσφαιρίνη, χολερυθρίνη, λιπίδια, φάρμακα, βιταμίνες κλπ. Προστίθεται γνωστή ποσότητα του παράγοντα που ενοχοποιείται για παρεμβολή και αναλύεται το δείγμα με την ίδια μέθοδο με και χωρίς προσθήκη
<b><u>Συστηματικό σφάλμα:</u></b> είναι πάντα ίδιου μεγέθους και προς την ίδια κατεύθυνση. Σε αυτό οφείλεται η μη ακρίβεια της μεθόδου	<b><u>Με σύγκριση μεθόδων:</u></b> η μέθοδος συγκρίνεται με μέθοδο αναφοράς και υπολογίζεται η διαφορά (ταύτιση ή απόκλιση) των δυο μεθόδων



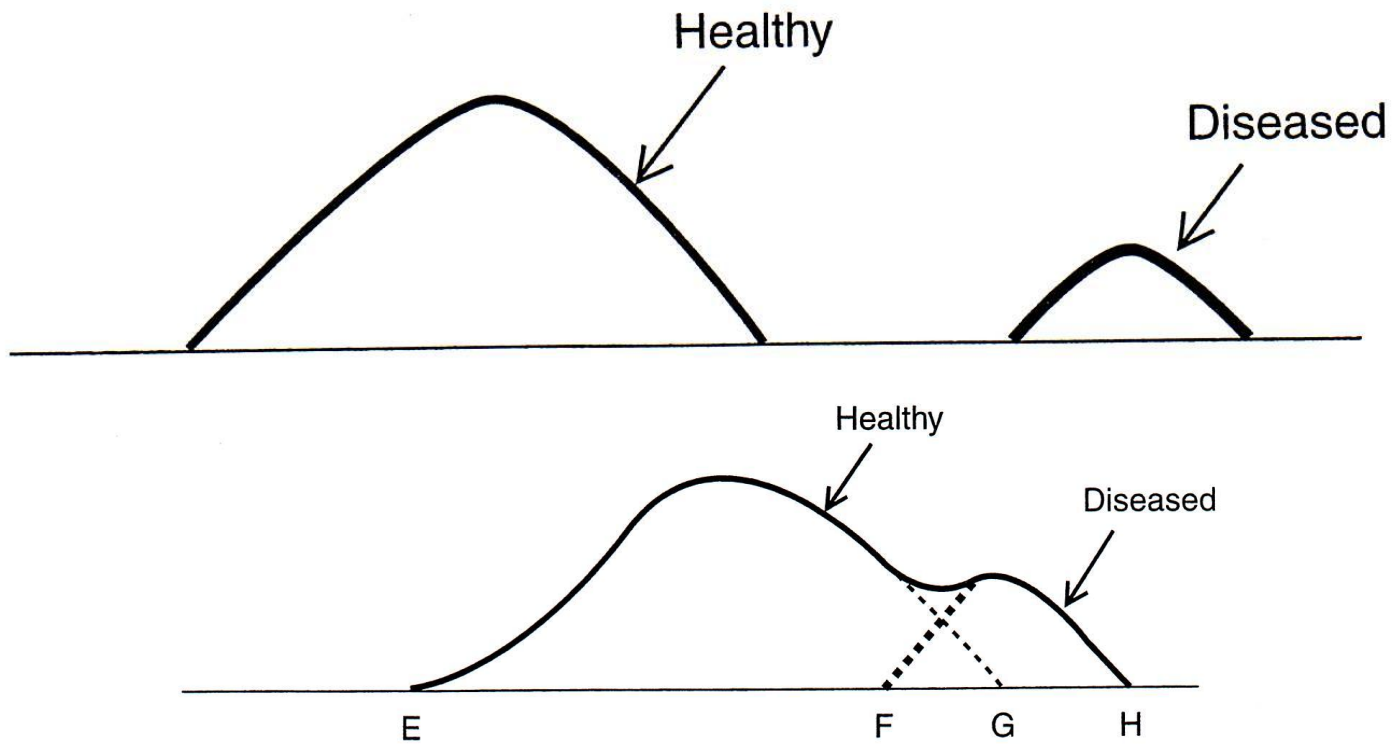
**Σχήμα 5.2.** Σχηματικό διάγραμμα κανονικής κατανομής  $\bar{X}$ =μέση τιμή  $S$ =τυπική απόκλιση. (9)

$$S^2 = \frac{\sum(\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}$$

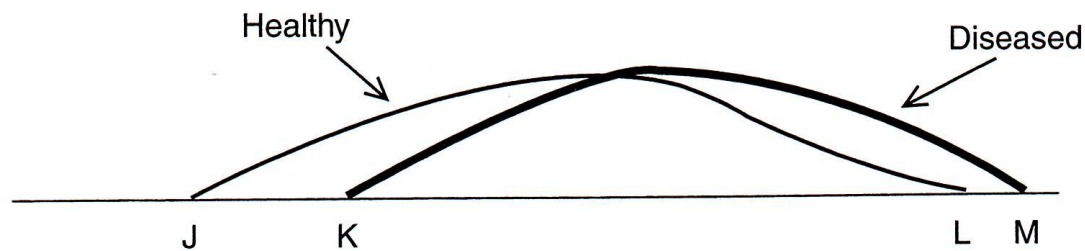
$S^2$  = διακύμανση

Ο παρονομαστής  $n-1$  καλείται βαθμός ελευθερίας. Η θετική τετραγωνική ρίζα της διακύμανσης καλείται τυπική απόκλιση,  $s$  ή SD (standard deviation).

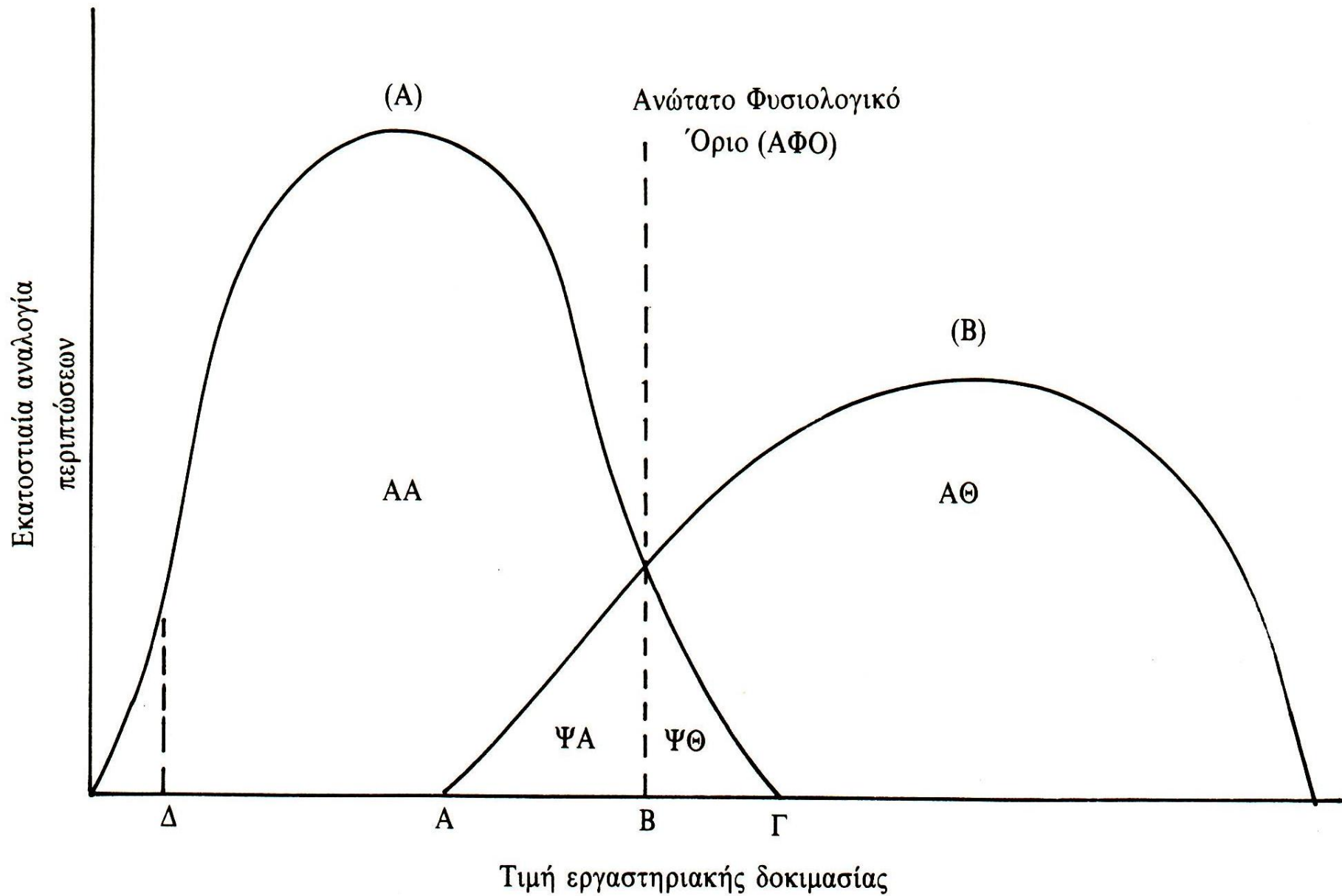
$$SD = \sqrt{S^2} = \frac{\sqrt{\sum(\bar{x} - x_i)^2}}{n - 1}$$



**Fig. 20-2** Usual test result distributions of healthy and diseased populations in which an overlap between the two occurs.



**Fig. 20-3** Degree of test result overlap does not permit differentiation between healthy and diseased populations.



Σχήμα 1.1. Διάγραμμα κατανομής συχνοτήτων πληθυσμού υγιών (A) και ασθενών (B).

	Έχει νόσο +	Δεν έχει νόσο -
ΘΕΤΙΚΑ +	Ευαισθησία ΑΘ	ΨΘ
ΑΡΝΗΤΙΚΑ -	ΨΑ	ΑΑ Εξειδίκευση

Ευαισθησία (Sensitivity)  $[ΑΘ/(ΑΘ+ΨΑ)] \times 100$

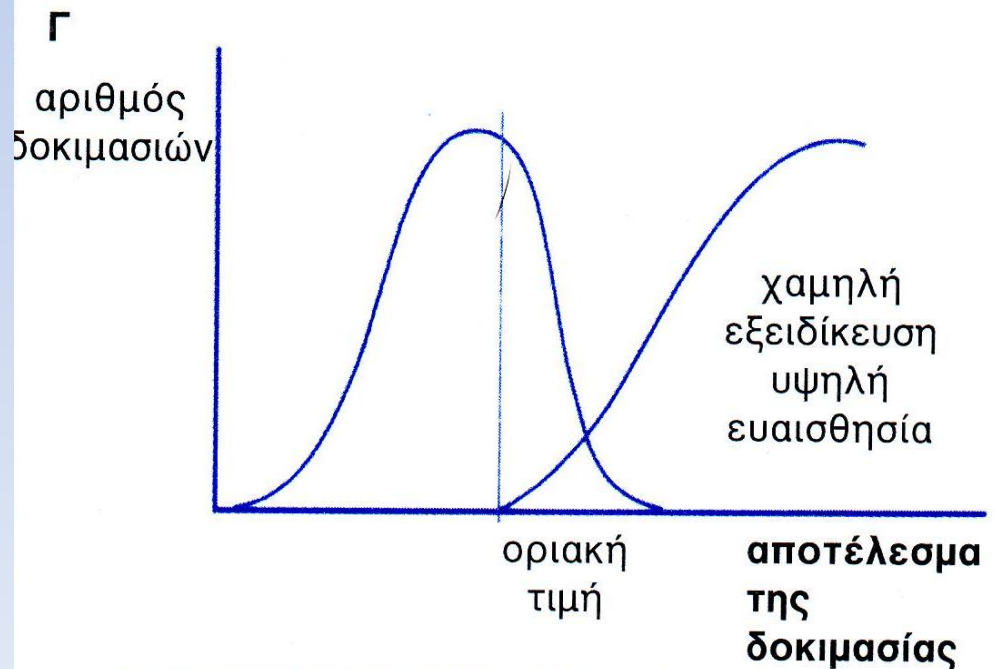
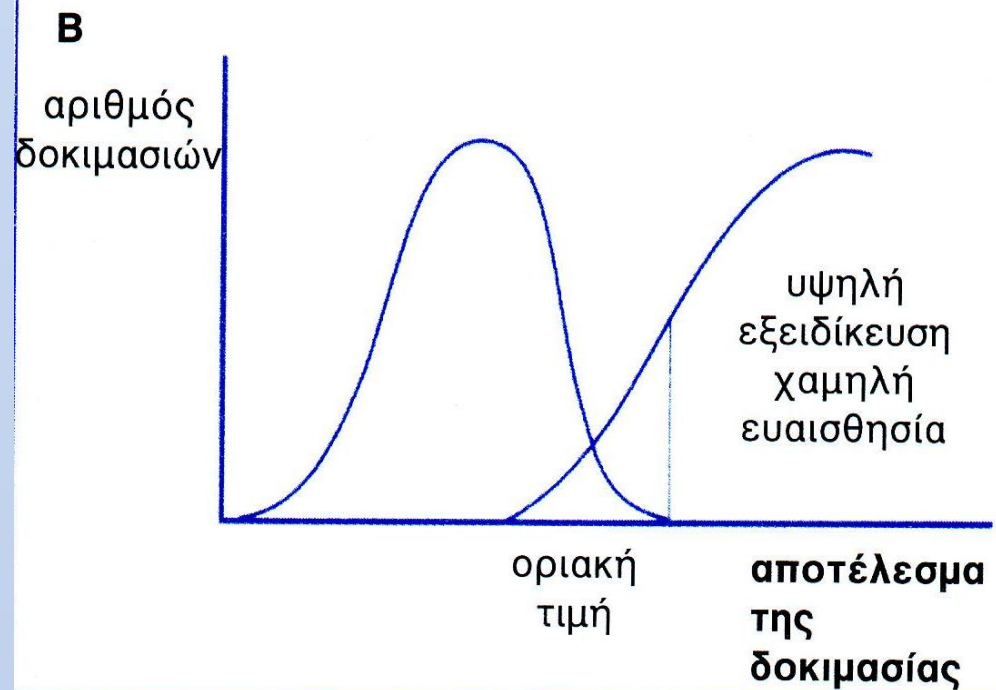
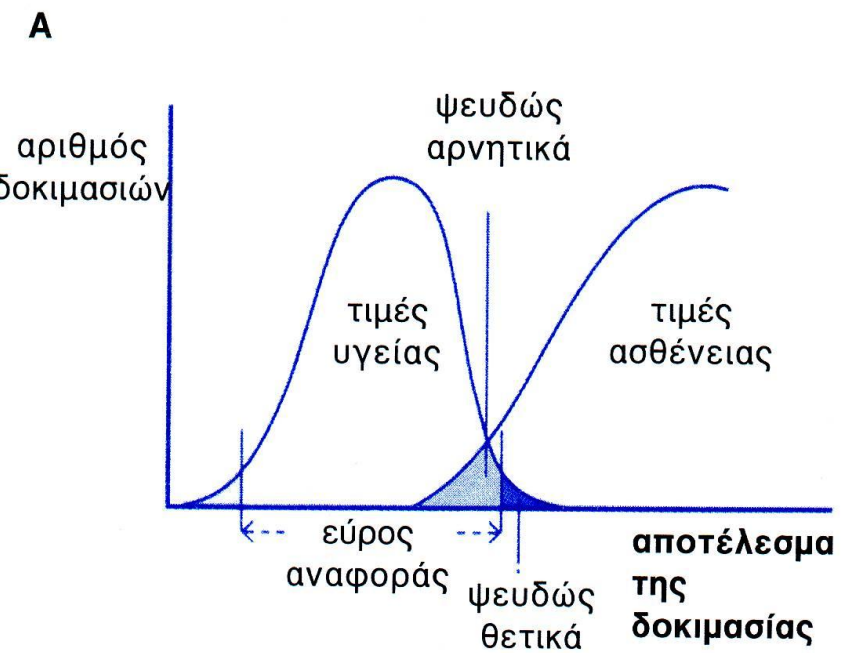
Εξειδίκευση (Specificity)  $[ΑΑ/(ΨΘ+ΑΑ)] \times 100$

Αποτελεσματικότητα-Απόδοση  $[(ΑΘ+ΑΑ)/(ΑΘ+ΑΑ+ΨΑ+ΨΘ)] \times 100$

Προβλεπτική-διαγνωστική αξία θετικού αποτελέσματος  $[ΑΘ/(ΑΘ+ΨΘ)] \times 100$   
 =[PV(+)] Prognostic Value

Προβλεπτική-διαγνωστική αξία αρνητικού αποτελέσματος  $[ΑΑ/(ΨΑ+ΑΑ)] \times 100$   
 =[PV(-)]

Επιπολασμός (Prevalence)  $(ΑΘ+ΨΑ)/(ΑΘ+ΑΑ+ΨΑ+ΨΘ)$



Η απόφαση για το σημείο αποκοπής (cutoff value) εξαρτάται από πολλούς παράγοντες

Ο επιπολασμός καρκίνου σε έναν πληθυσμό υπέρτασικών είναι 1%.  
 Ποια η διαγνωστική αξία ενός θετικού αποτελέσματος όταν η ευαισθησία της μεθόδου είναι 95% και η εξειδίκευση 95%;

## Νόσος

Τεστ		+	-	
	+	ΑΘ 95	ΨΘ 495	
	-	ΨΑ 5	ΑΑ 9405	
		<b>100</b>	<b>9900</b>	<b>10000</b>

**Άρα κατά 99% δεν έχει καρκίνο αν έχει υπέρταση**

- Ευαισθησία (Sensitivity)  $[ΑΘ/(ΑΘ+ΨΑ)] \times 100$
- Εξειδίκευση (Specificity)  $[ΑΑ/(ΨΘ+ΑΑ)] \times 100$
- Επιπολασμός (Prevalence)  $(ΑΘ+ΨΑ)/(ΑΘ+ΑΑ+ΨΑ+ΨΘ)$
- Προβλεπτική αξία θετικού αποτελέσματος  $[ΑΘ/(ΑΘ+ΨΘ)] \times 100$
- $= [95/(95+9405)] \times 100 = 1\%$



# ΟΡΙΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΑΠΟΦΑΣΗΣ

- **Ανάλυση απόφασης** είναι διαδικασία όπου λαμβάνονται υπόψη το ρίσκο και το όφελος της απόφασης που παίρνεται βάση της αριθμητικής πιθανότητα πρόβλεψης της σωστής διάγνωσης
- Όταν ο επιπολασμός μιας νόσου είναι χαμηλός, η διαγνωστική ευαισθησία πρέπει να είναι όσο το δυνατόν υψηλότερη



# Οδηγίες Galen-Gambino για το πότε είναι πιο σημαντική η ευαισθησία και πότε η εξειδίκευση ενός διαγνωστικού προσδιορισμού

- Η μέγιστη **ευαισθησία** απαιτείται
    1. Ασθένεια σοβαρή που δεν πρέπει να παραβλεφθεί
    2. Ασθένεια που θεραπεύεται
    3. ΨΘ αποτελέσματα δεν έχουν σοβαρές φυσικές, ψυχολογικές ή οικονομικές συνέπειες στον ασθενή
- Παράδειγμα: φαιοχρωμοκύττωμα (μοιραία, αλλά αν διαγνωστεί σχεδόν 100% θεραπεύσιμη), φενυλκετονουρία

- ◆ Η μέγιστη **εξειδίκευση** απαιτείται
- 1. Ασθένεια σοβαρή που δεν θεραπεύεται
- 2. Η γνώση ότι η ασθένεια δεν υπάρχει έχει ψυχολογική και κοινωνική αξία
- 3. ΨΘ αποτελέσματα έχουν σοβαρές φυσικές, ψυχολογικές ή οικονομικές συνέπειες στον ασθενή

Παράδειγμα: σκλήρυνση κατά πλάκας και αρκετές μορφές καρκίνου

- Υψηλή **προγνωστική αξία για θετικό αποτέλεσμα** απαιτείται

Η θεραπεία των ΨΘ μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις

Παράδειγμα: καρκίνος του πνεύμονα κατά τον οποίο η χειρουργική αφαίρεση μέρους του ή ακτινοβολίες έχουν σημαντική θνησιμότητα

◆ Η μέγιστη **απόδοση-αποτελεσματικότητα** απαιτείται

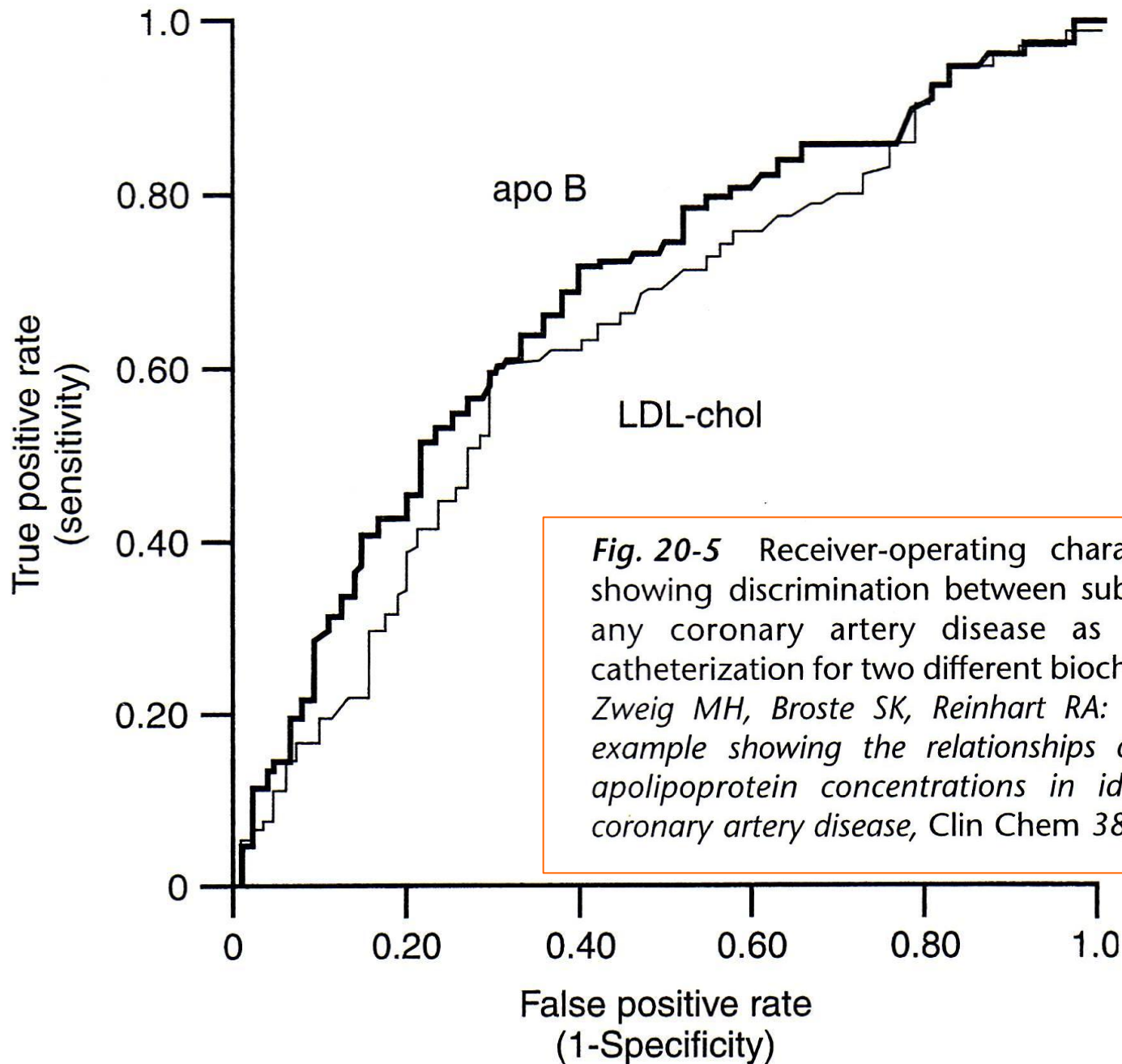
1. Η ασθένεια είναι σοβαρή αλλά θεραπεύεται
2. ΨΘ και ΨΑ είναι εξίσου σοβαρά και μπορεί να οδηγήσουν σε βλάβες

Παράδειγμα: έμφραγμα μυοκαρδίου. Η ασθένεια μπορεί να αποβεί μοιραία αλλά χορηγείται αγωγή. Ερυθματώδης λύκος, κάποιες μορφές λευχαιμίας και λεμφώματος και ο σακχαρώδης διαβήτης

Παράδειγμα: Μια νέα μέθοδος για προσδιορισμό α-αμυλάσης στον ορό του αίματος που χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία τόσο ως προς το παγκρεατικό ισοένζυμο (περίπτωση παγκρεατίτιδας) όσο και ως προς το ισοένζυμο των σιελογόνων αδένων (περίπτωση παρωτίτιδας). Έστω ότι μας ενδιαφέρει μόνο η διάγνωση της παγκρεατίτιδας. Τα συμπτώματα της οξείας παγκρεατίτιδας δεν προσομοιάζουν καθόλου με τα συμπτώματα της παρωτίτιδας και συνεπώς είναι αδύνατο να υπάρξει σύγχυση. Θα προτιμήσουμε τη νέα μέθοδο, λαμβάνοντας υπόψη ότι η ευαισθησία των άλλων μεθόδων προσδιορισμού παγκρεατικής αμυλάσης είναι μικρή.

Οι Galen-Gambino προτείνουν ότι η καλύτερη τιμή αποκοπής (cutoff value) για να χρησιμοποιηθεί για να κατηγοριοποιηθούν ασθενείς ότι πάσχουν από έμφραγμα μυοκαρδίου είναι αυτή που δίνει τη μέγιστη **διαγνωστική αποτελεσματικότητα**

- Ανάλογα με τον επιπολασμό της νόσου, η πιο χρήσιμη μέθοδος για να βρεθεί η «**χρυσή τομή**» **ανάμεσα στην ευαισθησία και την εξειδίκευση** της μεθόδου (που συνήθως μεταβάλλονται αντιστρόφως ανάλογα είναι η **καμπύλη ROC** Receiver –Operator Characteristic Curve, ή καμπύλη « των λειτουργικών χαρακτηριστικών»



*Fig. 20-5* Receiver-operating characteristic (ROC) curves showing discrimination between subjects with and without any coronary artery disease as measured by cardiac catheterization for two different biochemical indicators. (From Zweig MH, Broste SK, Reinhart RA: ROC curve analysis: an example showing the relationships among serum lipid and apolipoprotein concentrations in identifying patients with coronary artery disease, Clin Chem 38:1425, 1992.)

- Με τις καμπύλες ROC μπορεί να
  - φανεί η αποτελεσματικότητα μιας μεθόδου κάτω από διαφορετικές συνθήκες όπως διαφορετικές τιμές αποκοπής, ή διαφορετικούς πληθυσμούς ασθενών
  - συγκριθούν διαφορετικές διαγνωστικές μέθοδοι
- Το σημείο της καμπύλης που είναι πιο κοντά στην πάνω αριστερά γωνία αντιστοιχεί στην καταλληλότερη τιμή αποκλεισμού (όριο απόφασης) η οποία παρέχει τη μεγαλύτερη **διαγνωστική ακρίβεια**, δηλαδή την μεγαλύτερη **αποτελεσματικότητα** του προσδιορισμού
- Η περιοχή κάτω από την καμπύλη αντιστοιχεί στην ολική ακρίβεια της μεθόδου

# ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΝΟΡΓΑΝΟΥ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ	ΜΕΤΡΟΥΜΕΝΗ ΦΥΣΙΚΗ ΙΔΙΟΤΗΤΑ
<b>Οπτικές μέθοδοι</b>	
Φλογοφωτομετρία	εκπεμπόμενη ακτινοβολία
Φθορισμομετρία α. ακτινών χ	εκπεμπόμενη ακτινοβολία
β. υπεριώδους	εκπεμπόμενη ακτινοβολία
γ. ορατού	εκπεμπόμενη ακτινοβολία
<b>Φασματοφωτομετρία απορρόφησης υπεριώδους</b>	απορροφούμενη ακτινοβολία
<b>Φασματοφωτομετρία απορρόφησης ορατού</b>	απορροφούμενη ακτινοβολία
<b>Φασματοφωτομετρία απορρόφησης υπέρυθρου</b>	απορροφούμενη ακτινοβολία
Φασματοφωτομετρία υπέρυθρης απορρόφησης	απορροφούμενη ακτινοβολία
Φασματοφωτομετρία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού	απορροφούμενη ακτινοβολία
Φασματοσκοπία Raman	σκεδαζόμενη ακτινοβολία
Θολωσιμετρία	σκεδαζόμενη ακτινοβολία
Νεφελομετρία	σκεδαζόμενη ακτινοβολία
Πολωσιμετρία	στροφή επιπέδου πολωμένου φωτός
Διαθλασιμετρία	δείκτης διάθλασης
<b>Ηλεκτρικές μέθοδοι</b>	
Ποτενσιομετρία	δυναμικό
Κουλομετρία	ποσότητα ηλεκτρισμού
Πολαρογραφία	ένταση ρεύματος
Αμπερομετρία	ένταση ρεύματος
Αγωγιμομετρία	αγωγιμότητα
<b>Διάφορες άλλες μέθοδοι</b>	
Φασματοσκοπία μαζών	λόγος μάζας προς σθένος προϊόντων θραύσης
<b>Ραδιοχημικές μέθοδοι</b>	
Ραδιοχημική	εκπεμπόμενη ακτινοβολία α, β, γ

# Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα



Ορατό Φως



# Το φως ως ΗΜ κύμα

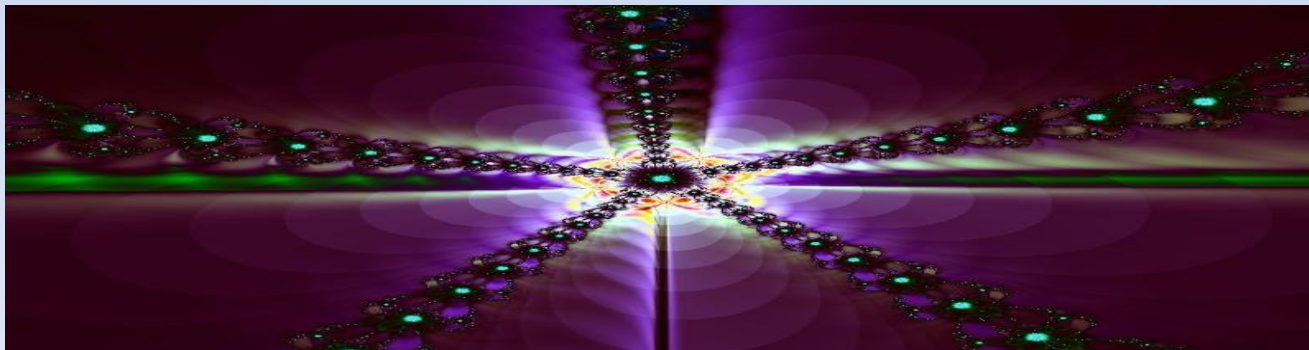
- Εσείς τι θα λέγατε ότι είναι το φως;
- Πως το αντιλαμβάνεστε;
- Μπορείτε να αναφέρετε μερικές πηγές φωτός;

Το φως έχει κυματικά χαρακτηριστικά ή όπως συνηθίζεται να λέμε είναι ηλεκτρομαγνητικό κύμα (ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία)



# Ηλεκτρομαγνητική Ακτινοβολία

- Η ΗΜ ακτινοβολία αποτελεί τη μορφή ενέργειας που εκπέμπεται από τα διάφορα αντικείμενα, μόρια ή άτομα και η οποία μεταφέρεται με την μορφή ΗΜ κυμάτων
- Επομένως όλα τα είδη της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας «ταξιδεύουν» στο χώρο με τη μορφή κυμάτων
- Το ορατό φως είναι ΗΜ ακτινοβολία

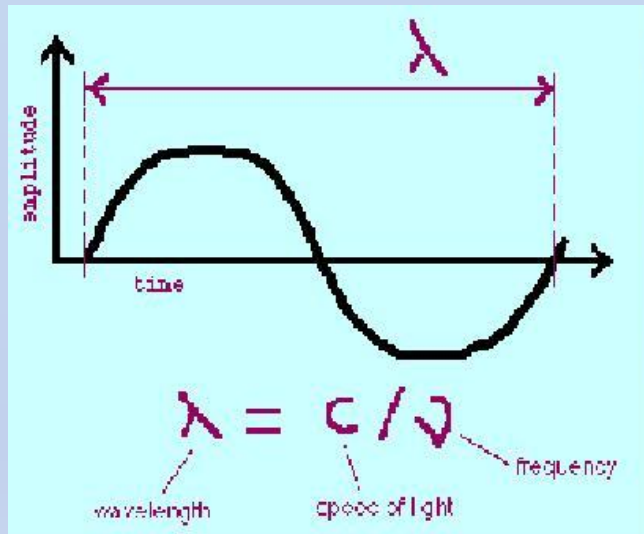


# Ηλεκτρομαγνητικό Κύμα

- Με απλά λόγια, ένα ΗΜ κύμα αποτελεί τον τρόπο με τον οποίο μεταφέρεται ενέργεια από ένα σημείο σε ένα άλλο χωρίς τη μεσολάβηση κάποιου μέσου
- Τα ΗΜ κύματα και άρα και το φως μπορούν να «ταξιδεύουν» στο **κενό** (Σε αντίθεση με κύματα όπως τα ηχητικά, της θάλασσας, μηχανικά κτλ.)



# Ηλεκτρομαγνητικό Κύμα



Μήκος κύματος =  $\lambda$

Συχνότητα =  $\nu$

Ταχύτητα του φωτός =  $c$

$c=300.000 \text{ km/s}$

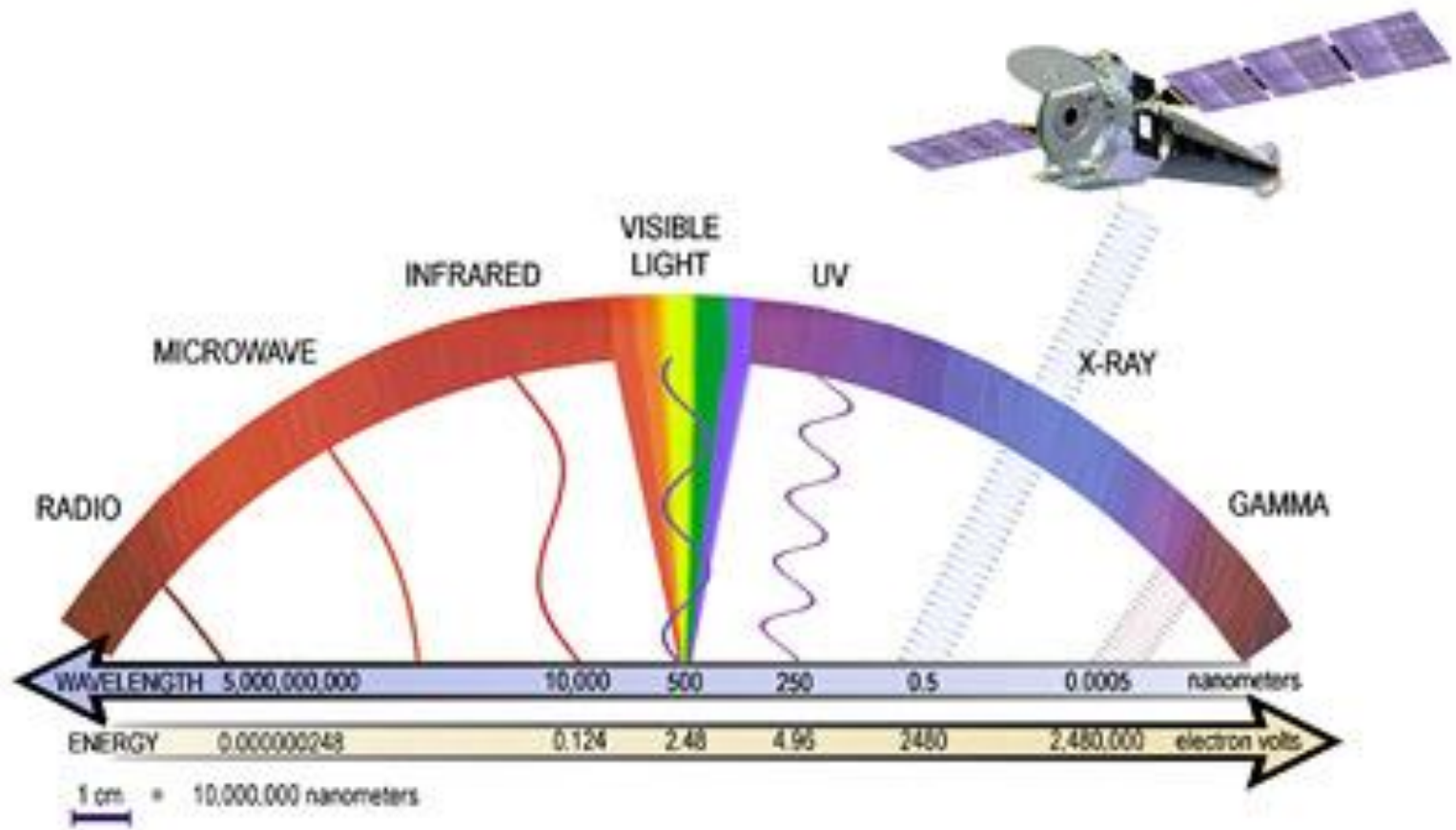
- Επαναλαμβάνεται κάθε  $\lambda$  μέτρα στο χώρο
- Επαναλαμβάνεται  $\nu$  φορές κάθε δευτερόλεπτο
- Ταξιδεύει με την ταχύτητα του φωτός  $c$
- Απαιτείται χρόνος μιας περιόδου  $T$  για μια πλήρη ταλάντωση

# Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα

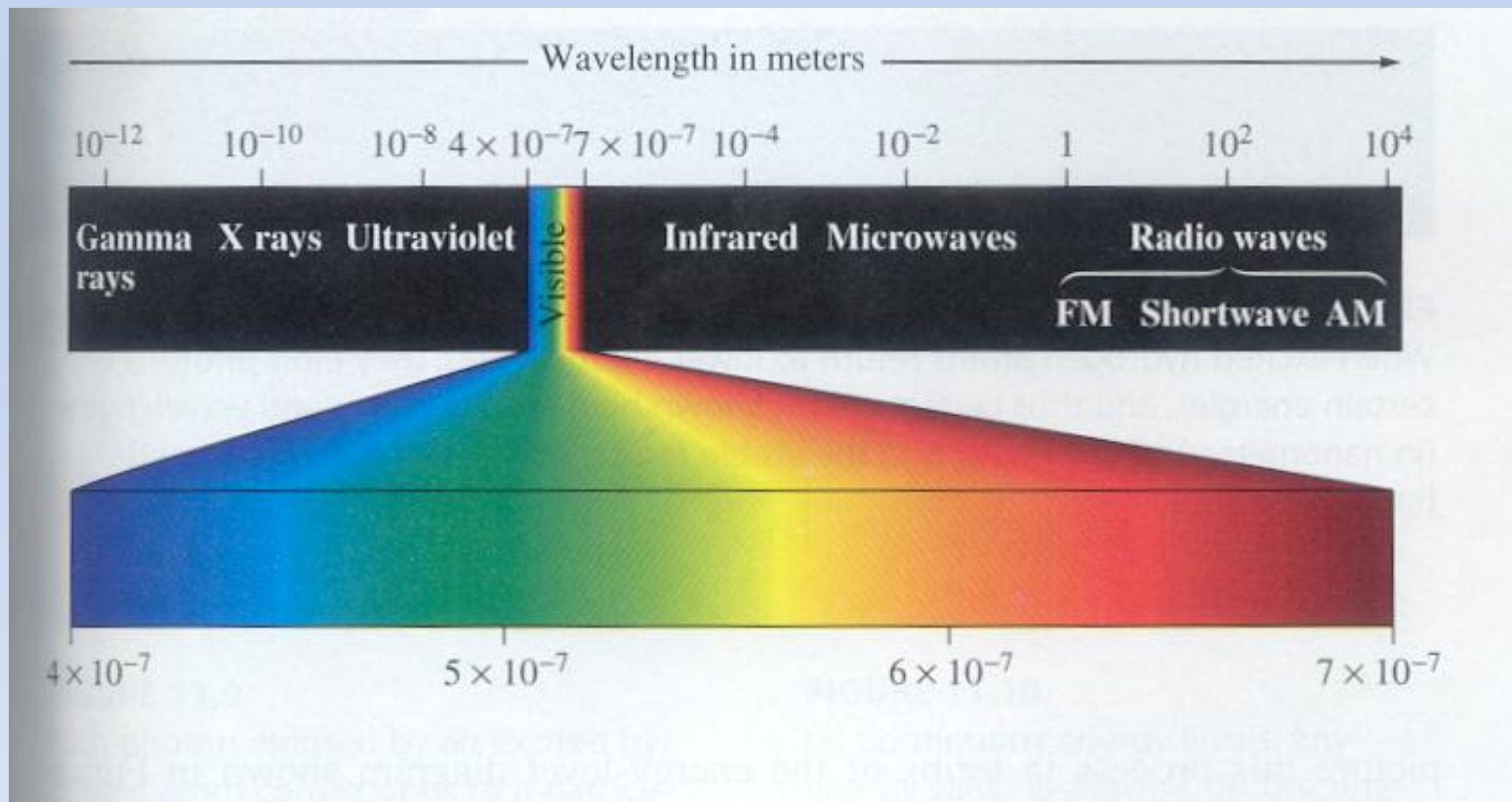
- Τα ΗΜ κύματα δημιουργούνται από τις κινήσεις των ηλεκτρικών φορτίων
- Οι έννοιες φως, ΗΜ κύμα, ΗΜ ακτινοβολία θεωρούνται ταυτόσημες

Το σύνολο των ΗΜ κυμάτων αποτελεί το  
*Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα*

# Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα

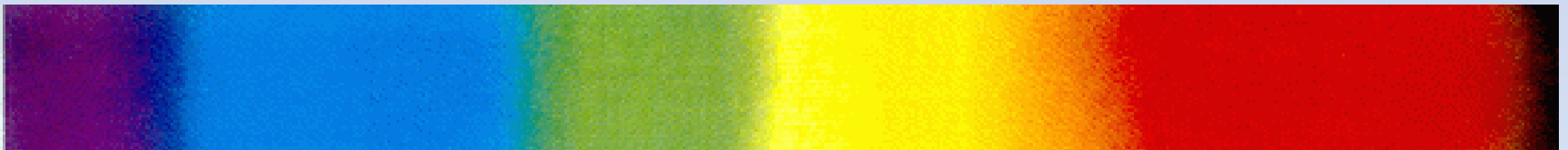


# Το ορατό φως



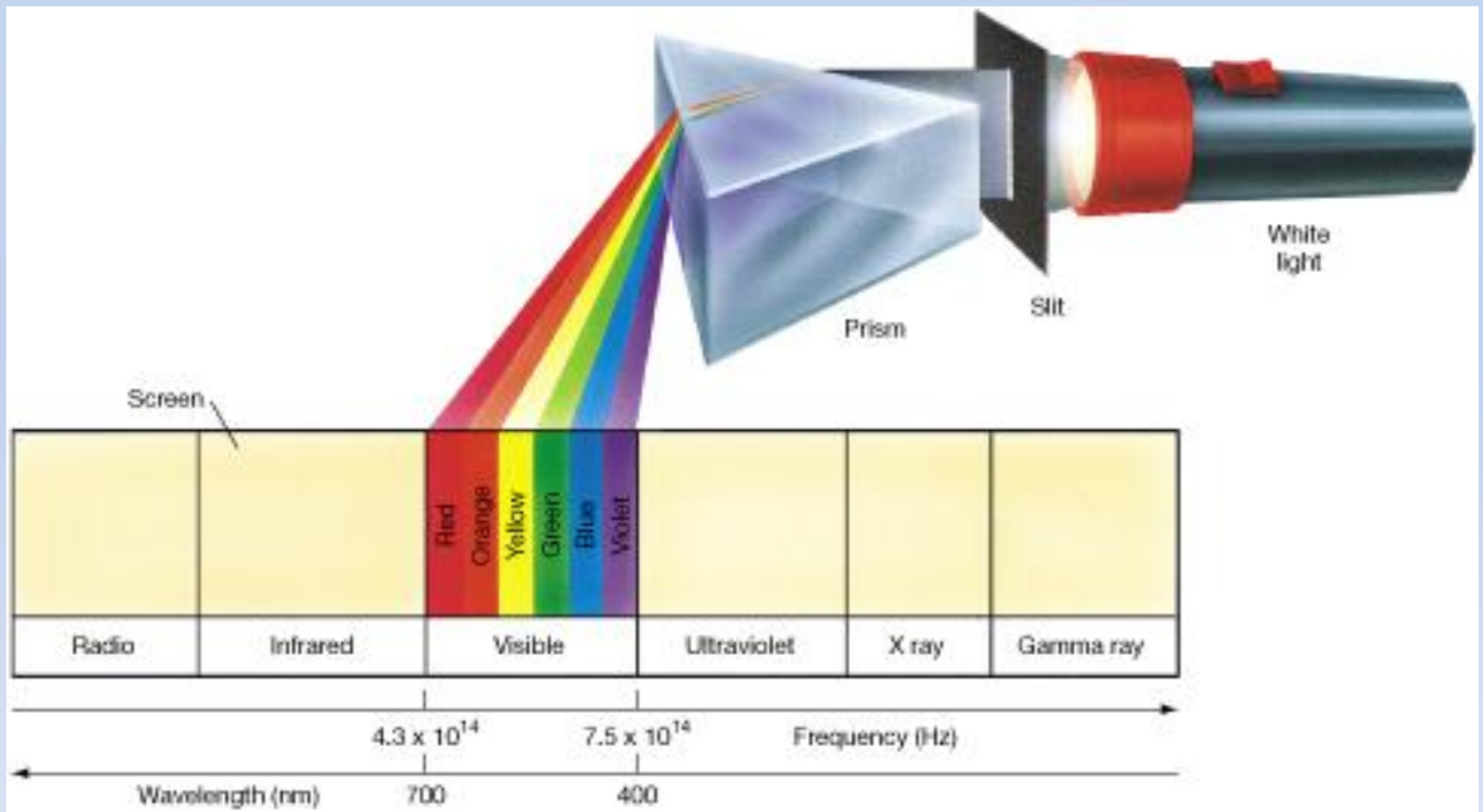
# Το ορατό φως

- Το ορατό φως αποτελεί ένα **πολύ μικρό** κομμάτι του Ηλεκτρομαγνητικού Φάσματος
- Το λέμε **ορατό** και είναι σημαντικό για εμάς σε σχέση με τα υπόλοιπα μέρη του ΗΜ φάσματος **γιατί τα μάτια μας είναι «σχεδιασμένα» να βλέπουν σε αυτά τα μήκη κύματος**
- Η περιοχή του φάσματος που αντιστοιχεί στο ορατό φως κυμαίνεται από 700nm – 400nm ( **$1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$** )



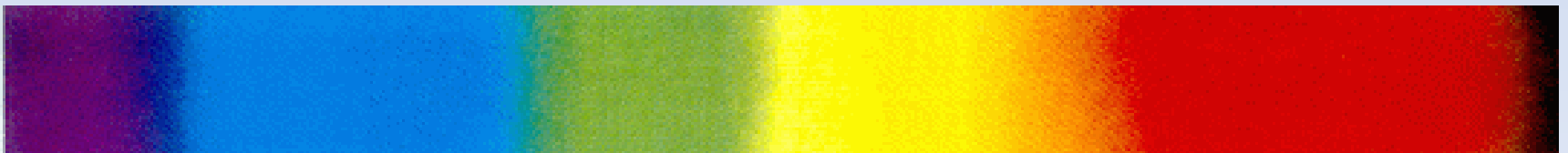


# Το λευκό φως και τα χρώματα

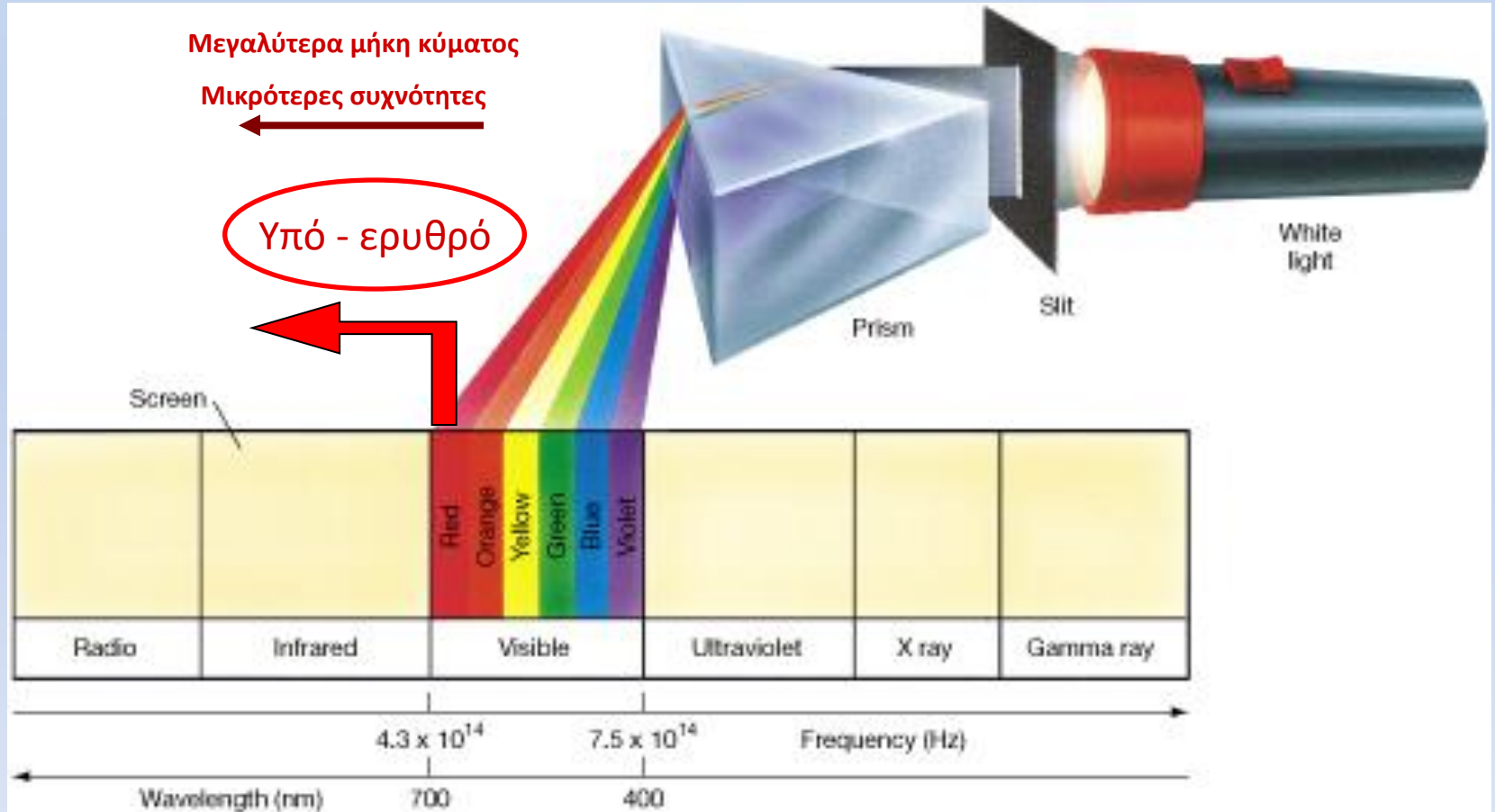


# Τα χρώματα

- Γιατί ένα αντικείμενο φαίνεται κόκκινο;
- Γιατί ένα αντικείμενο φαίνεται μπλε;
- Το λευκό φως είναι το αποτέλεσμα της σύνθεσης όλων των χρωμάτων. Ένα σώμα φαίνεται λευκό όταν ανακλά όλες τις συχνότητες του ορατού φωτός
- Ένα σώμα φαίνεται μαύρο όταν απορροφάει όλες τις συχνότητες του ορατού φωτός
- Ένα σώμα είναι διάφανο όταν το φως το διαπερνάει χωρίς να ανακλαστεί ή να απορροφηθεί από αυτό



# Το Υπέρυθρο



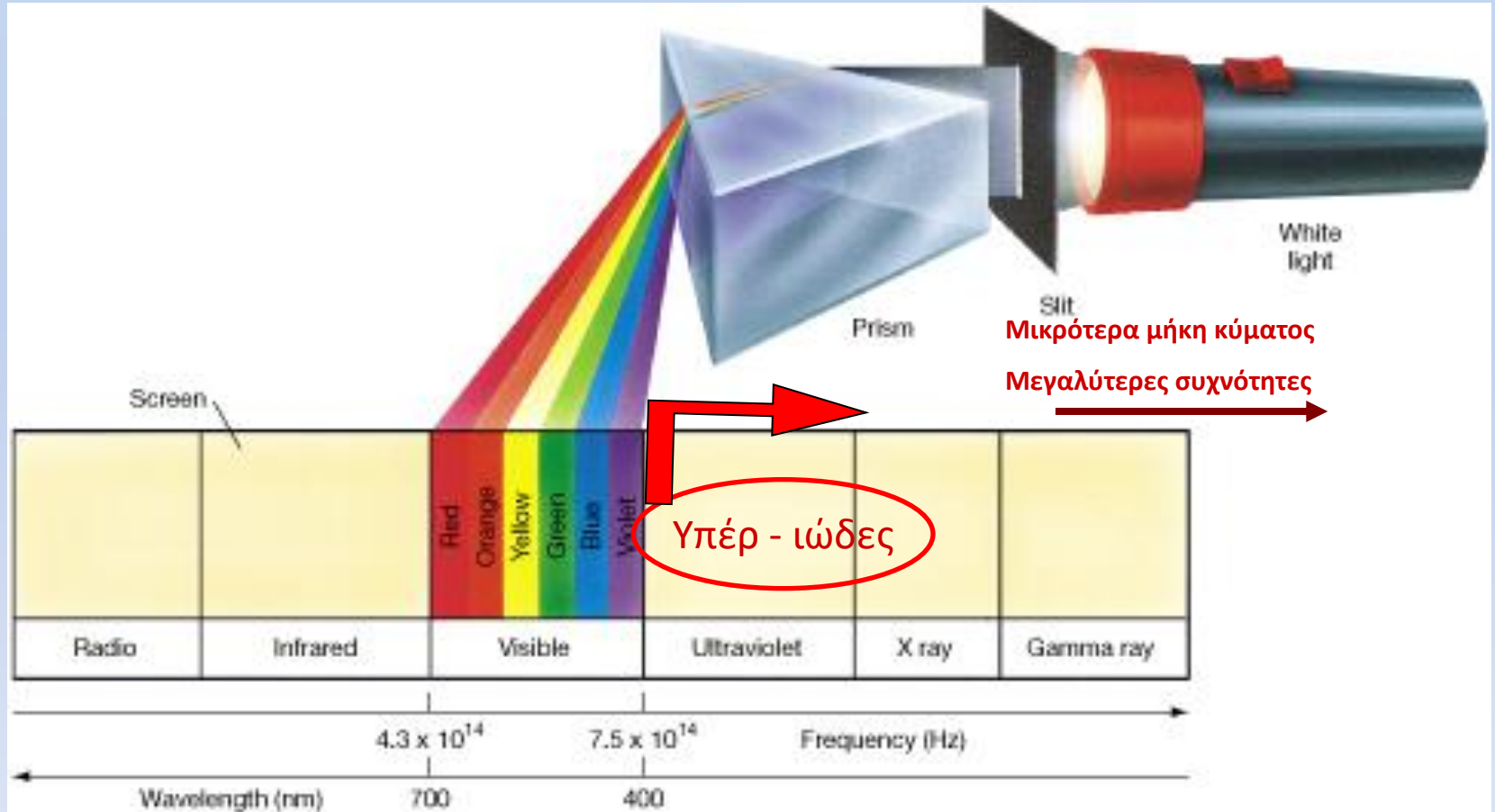
# Το Υπέρυθρο

- Το υπέρυθρο καλύπτει την περιοχή με μήκη κύματος από **0.7μm ως 100μm** (η περιοχή αυτή έχει εύρος 100 φορές μεγαλύτερο από το εύρος της περιοχής του ορατού φωτός)
  - Τα υπέρυθρα κύματα παράγονται εύκολα και φθηνά, δεν μπορούν να διαπεράσουν στερεά αντικείμενα
- Μπορείτε να αναφέρετε τεχνολογίες και εφαρμογές που αξιοποιούν τις ιδιότητες της υπέρυθρης ακτινοβολίας;

# Το Υπέρυθρο

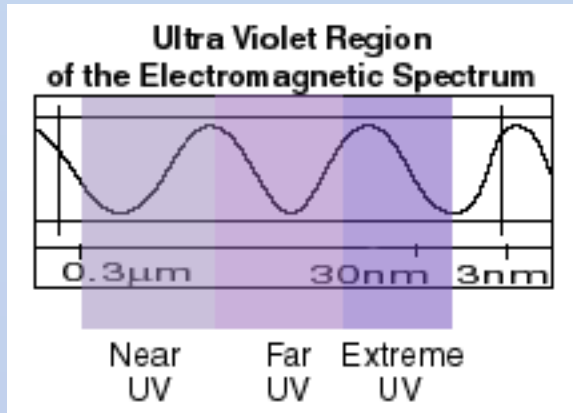
- Αφού δεν διαπερνά στερεά είναι πολύ χρήσιμο για την ανάπτυξη τοπικών δικτύων π.χ. Δίκτυα υπολογιστών με ασύρματη σύνδεση μεταξύ τους ή με κινητά τηλέφωνα
- Το τηλεκοντρόλ
- Το e-pass της Αττικής Οδού
- Θερμικές κάμερες και ανιχνευτές
- Στην αστρονομία κυρίως με τηλεσκόπια στο διάστημα

# Το Υπεριώδες



# Το Υπεριώδες

Το υπεριώδες (UV) φως έχει πιο μικρά μήκη κύματος από το ορατό φως



300nm – 30nm

Αν και τα κύματα αυτά είναι αόρατα στο ανθρώπινο μάτι, μερικά έντομα, όπως οι μέλισσες, μπορούν να τα δουν

Η φασματική περιοχή του υπεριώδους χωρίζεται σε τρία μέρη

- κοντινό UV (πολύ κοντά στο ορατό) UV-A
- το μακρινό UV UV-B
- πολύ μακρινό UV UV-C

Όσο πιο «μακρινό» τόσο μεγαλύτερη η ενέργεια της ακτινοβολίας

# Το Υπεριώδες

Ο Ήλιος μας ακτινοβολεί σε όλα τα μέρη του ΗΜ φάσματος και στο υπεριώδες.

Η ατμόσφαιρα της γης, με το στρώμα του όζοντος, μας προστατεύει από τις βλαβερές συνέπειες της υπεριώδους ακτινοβολίας του Ήλιου

- Γιατί μας λένε να μην καθόμαστε πολύ ώρα στον ήλιο;

*UV-A: μπορεί να επιταχύνει τη γήρανση του δέρματος*

*UV-B: προκαλεί μαύρισμα αλλά και σοβαρές βλάβες στο δέρμα*

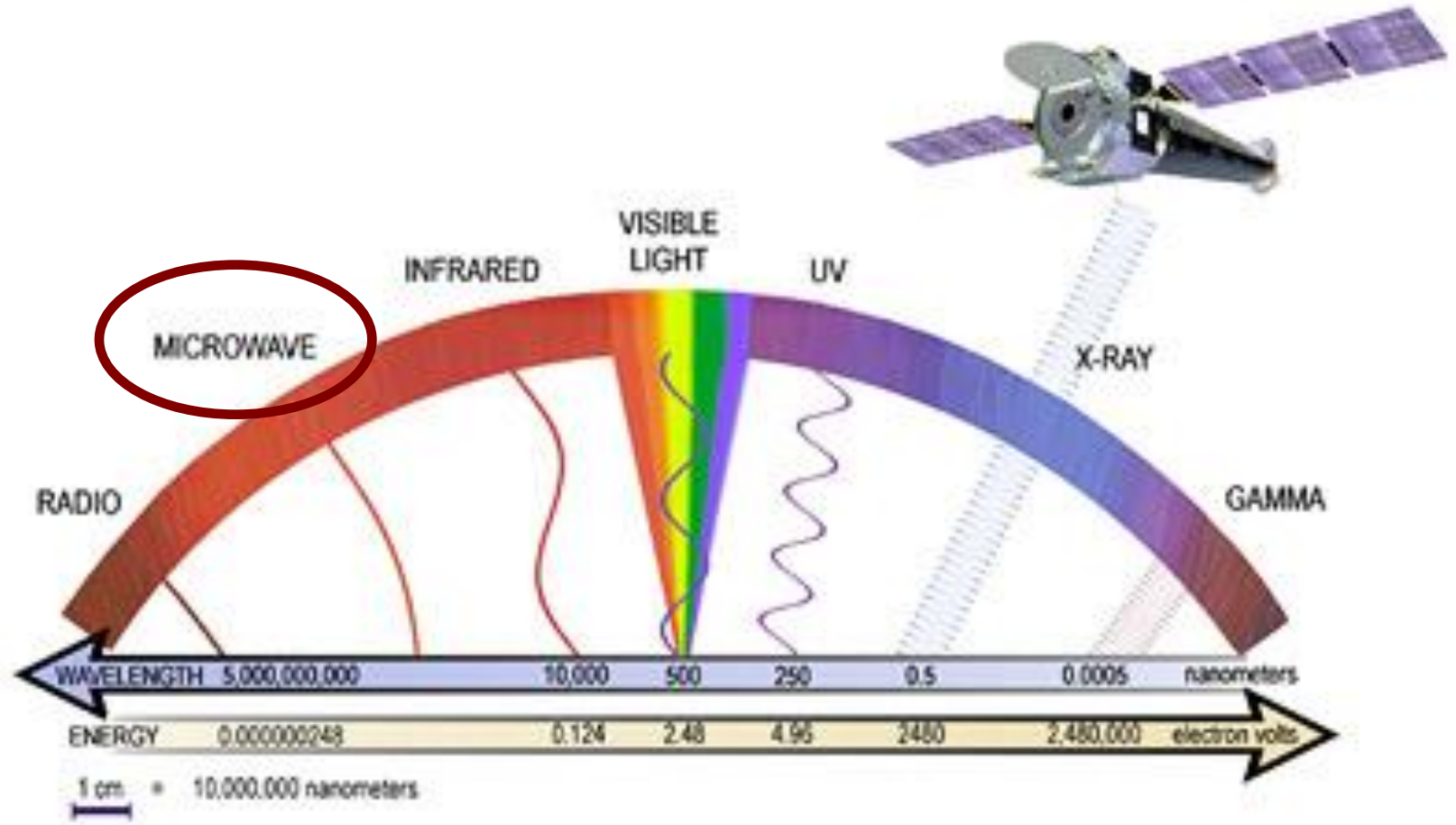
*UV-C: πολύ επικίνδυνη, μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις*

Το δέρμα μας παράγει τη μελανίνη για να μας προστατέψει από την υπεριώδη ακτινοβολία.

Τα μάτια μας όμως δεν έχουν τέτοιου είδους προστασία

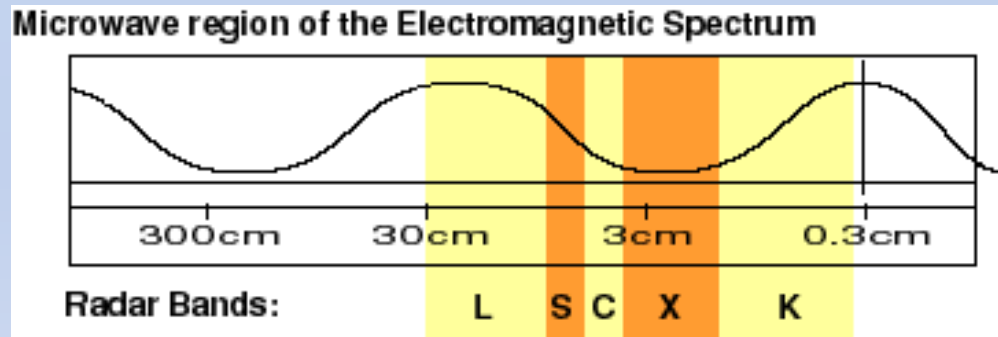


# Τα Μικροκύματα



# Τα Μικροκύματα

- Τα μικροκύματα έχουν μήκη κύματος που φτάνουν τα μερικά εκατοστά



-Μπορείτε να αναφέρετε τεχνολογίες και εφαρμογές που αξιοποιούν τα μικροκύματα;

# Τα Μικροκύματα

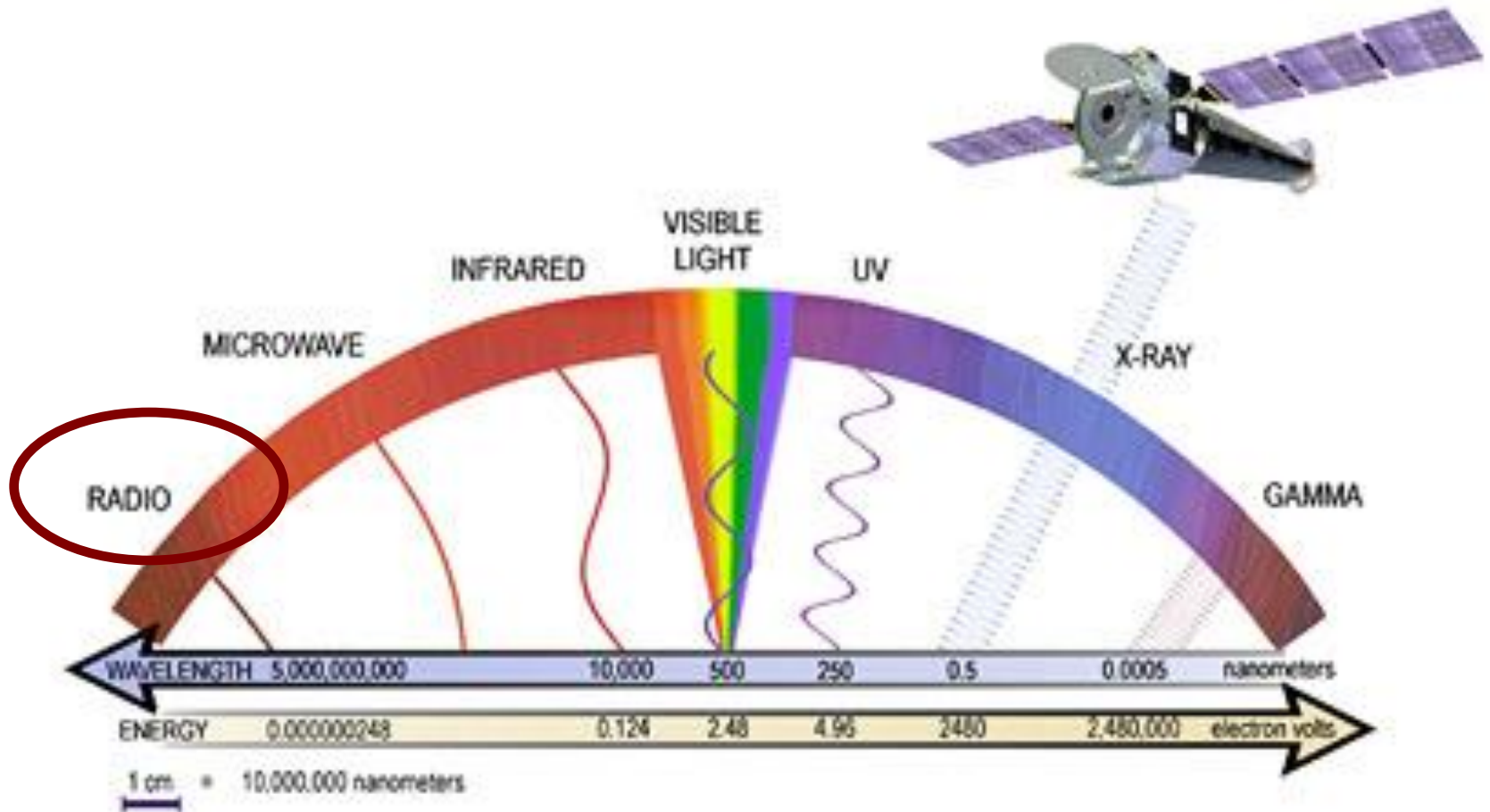
Τα μικροκύματα με μεγάλο μήκος κύματος χρησιμοποιούνται στους φούρνους μικροκυμάτων



Μικροκύματα χρησιμοποιούνται ευρύτατα στις τηλεπικοινωνίες γιατί επιτρέπουν τη μεταφορά πληροφορίας χωρίς να επηρεάζονται από τις ατμοσφαιρικές συνθήκες



# Τα Ραδιοκύματα

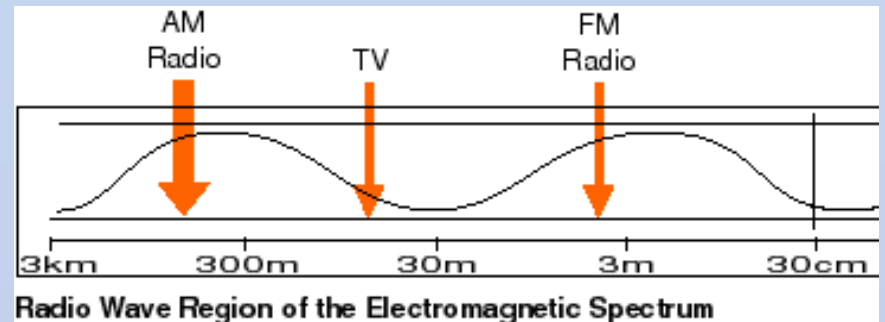


# Τα Ραδιοκύματα

Τα ραδιοκύματα έχουν τα πιο μεγάλα μήκη κύματος.  
(50cm-1km)

Τα ραδιοκύματα δεν αξιοποιούνται μόνο για να ακούμε μουσική από τα ραδιόφωνα μας.

Τα ραδιοκύματα χρησιμοποιούνται και για την μεταφορά του τηλεοπτικού σήματος και για τις ανάγκες της κινητής τηλεφωνίας



FM 88 to 108 MHz  
AM 535 to 1705kHz



# Τα Ραδιοκύματα

Λόγω του μεγάλου μήκους κύματος των ραδιοκυμάτων χρησιμοποιούνται μεγάλα παραβολικά τηλεσκόπια για την καταγραφή κάποιου ραδιο σήματος από κάποιο αστρονομικό αντικείμενο

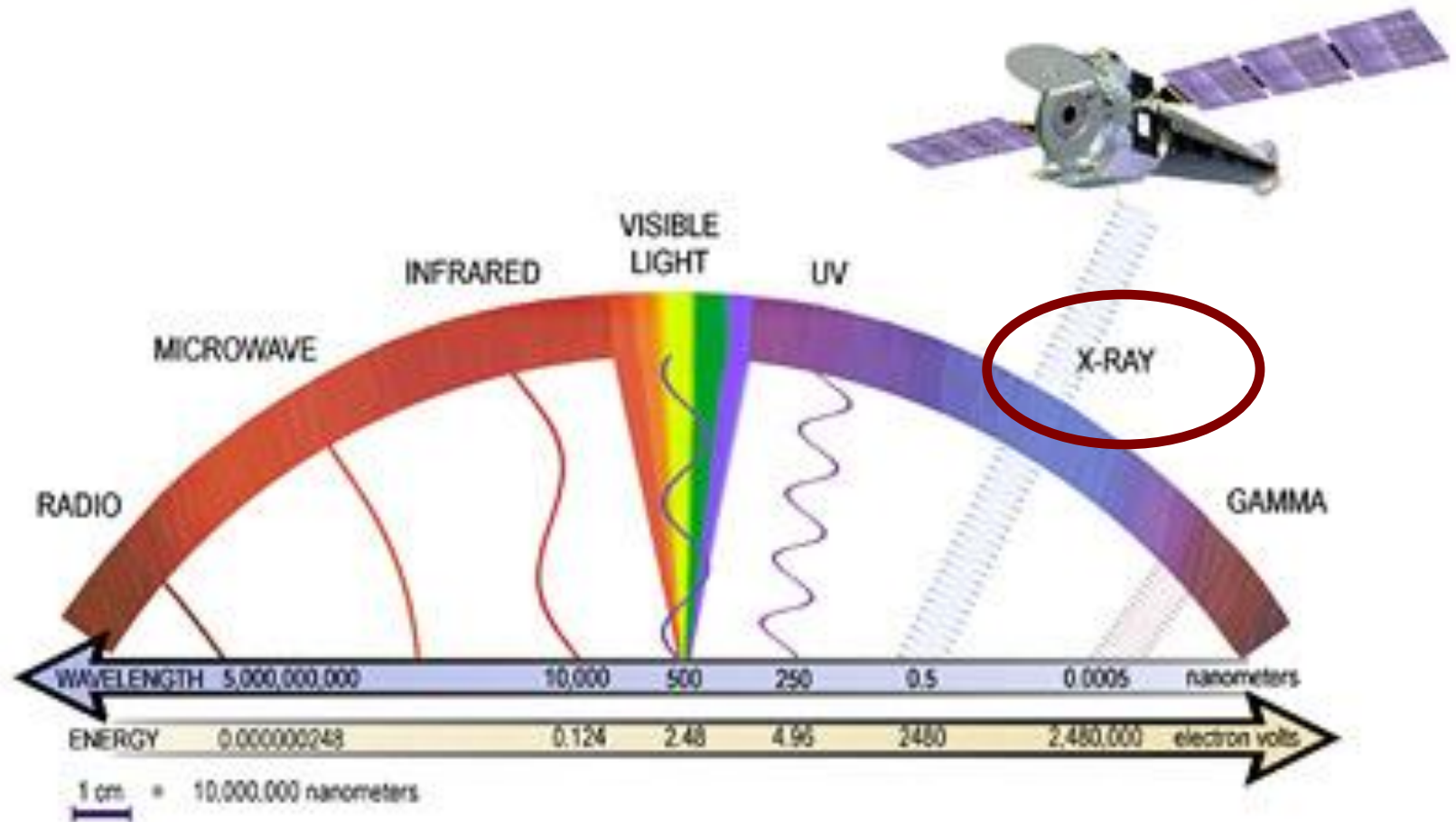
Για την ανίχνευση σημάτων πολύ μεγάλου μήκους κύματος και για να βελτιώσουν την ποιότητα του σήματος οι επιστήμονες συνδυάζουν πολλά τηλεσκόπια μαζί

Το VLA (Very Large Array) αποτελείται από 27 δέκτες σε σχήμα Υ και καλύπτει μήκος 36 km





# Ακτίνες Χ

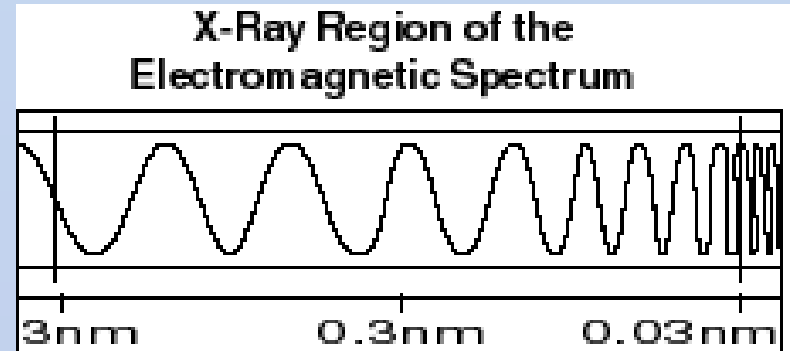


# Ακτίνες Χ

Οι ακτίνες Χ έχουν πολύ μικρά μήκη κύματος

Η ακτινοβολία αυτή ανακαλύφθηκε τυχαία το 1895 από το Γερμανό Φυσικό Roentgen και είναι γνωστή και ως ακτινοβολία Roentgen

Πολλά αστρονομικά αντικείμενα εκπέμπουν στις ακτίνες Χ αλλά η ακτινοβολία δεν μπορεί να διαπεράσει την ατμόσφαιρα της γης





# Ακτίνες Χ

Οι ακτίνες Χ όταν προσπίπτουν στο ανθρώπινο σώμα διαπερνούν τους ιστούς και τα όργανα πολύ πιο εύκολα, ενώ απορροφούνται περισσότερο από τα κόκαλα μας

Εάν, ενώ ακτινοβολούμε το ανθρώπινο σώμα, τοποθετήσουμε ένα φιλμ φωτοευαίσθητο στις ακτίνες Χ στη πίσω πλευρά του σώματος μπορούμε να πάρουμε μια ακτινογραφία

**Καλό είναι να αποφεύγετε τις πολλές ακτινογραφίες!**



# Ακτίνες Γ

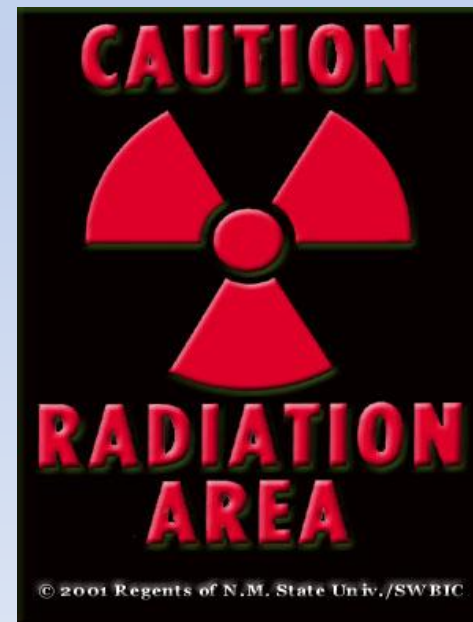
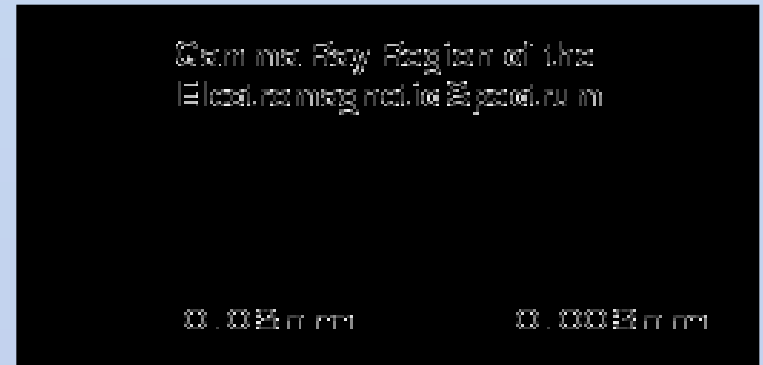
Οι ακτίνες Γ έχουν τα μικρότερα μήκη κύματος και την πιο μεγάλη ενέργεια

Είναι εξαιρετικά επικίνδυνες για τον άνθρωπο

Αποτελούν αυτό που αποκαλούμε Ραδιενέργεια

Εκπέμπονται από ραδιενεργά στοιχεία και κατά τις πυρηνικές αντιδράσεις

Η ατμόσφαιρα της γης μας προστατεύει από τις ακτίνες γ που προέρχονται από το διάστημα



# ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ- ΟΡΑΤΟΥ (UV-Vis)

<https://www.youtube.com/watch?v=pxC6F7bK8CU>

<https://www.youtube.com/watch?v=Rem9KkolKBI>

<https://www.youtube.com/watch?v=b04OhT4UBzU>