

1.1 试验原理 钙离子和 Arsenazo III 在碱性条件下反应生成紫红色的螯合物,其颜色的强度与钙离子浓度成正比。

1.2 仪器 美国实验仪器公司(IL公司)Monarch-1000型全自动生化分析仪;上海第三分析仪器厂721型分光光度计。

1.3 试剂 由波音特(Pointe)生物科技上海有限公司提供,主要试剂成份:Arzenazo III 0.15mmol/L,8-羟基喹啉硫酸盐 5.0mmol/L。标准液由上海生物制品研究所提供,含量 2.5mmol/L。标准贮存液自配,含量 10.0mmol/L。

1.4 试验参数

1.4.1 自动生化分析仪参数(终点法):样品量 2 μ l,样品稀释量 10 μ l;试剂量 200 μ l,试剂稀释量 10 μ l;温度 30 $^{\circ}$ C;波长 650nm;延迟时间 5 秒,间隔时间 60 秒;空白液:试剂。

1.4.2 手工法参数:样品 25 μ l,试剂 3ml,混匀后 5 分钟在分光光度计上 650nm 处比色。

2 结果和讨论

2.1 吸收光谱测定 用 721 型分光光度计对反应混合液(试剂空白调零)进行连续扫描。结果最佳吸收峰在 600nm 和 650nm,因 600nm 处试剂空白较高,故选用 650nm 为工作波长。

2.2 精密度的试验 用混合血清作批内精密度的试验,重复测定 30 次,测得 \bar{x} :2.60mmol/L, s :0.040mmol/L, CV:1.54%。

用质控血清作批间精密度的试验,连续观察 10 天,

共 20 次,测得 \bar{x} :2.78mmol/L, s :0.068mmol/L, CV:2.44%。

2.3 回收试验 4 例血清标本中,分别加入钙标准液 0.50, 1.00, 1.50, 2.00mmol/L,测得其回收率为 96.6%~103.0%,平均回收率为 99.1%。

2.4 线性 用蒸馏水将 10.0mmol/L 的钙标准贮存液分别稀释成 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00mmol/L 的浓度,然后与试剂反应,观察浓度与吸光度(A)的关系。结果当钙离子浓度 <4.0 mmol/L 时线性良好, r 为 0.9975。

2.5 时间对测定的影响 在室温条件下,将标准液与试剂混合后,在不同时间内观察显色的稳定性。结果 A 值在一小时内显色稳定。

2.6 温度对测定的影响 4 例血清标本在不同温度条件下(25 $^{\circ}$ C, 30 $^{\circ}$ C, 37 $^{\circ}$ C)测定,显色反应基本一致。

2.7 干扰试验 当血清中 $Mg^{2+} < 6.0$ mmol/L, Hb < 6 g/L, 总胆红素 $< 240\mu$ mol/L, 脂浊($T_G < 4.50$ mmol/L)时,对本法测定无影响。

2.8 本法和 MTB 法比较 选择 30 例样品在同一天内用本法和 MTB 法进行比较,得相关系数 r 为 0.9806,回归方程为: $Y = 0.9103X + 0.2061$, $P > 0.05$ 。

Arzenazo III 法测定血清钙离子,简便快速,精密度高,显色稳定,干扰因素少,线性范围宽,可用于手工和自动生化分析仪,是一种理想的测定血清钙方法。目前国内已有商品试剂供应,适用于各级医院使用。

(收稿:1995-09-15)

临床检验方法比较研究中回归分析方法的介绍

王治国 (卫生部临床检验中心 北京 100730)

摘要 介绍了用于临床检验方法比较研究数据分析的四种回归方法:普通的最小平方法回归分析,加权最小平方法回归分析,戴明(Deming)方法,加权修改的 Deming 方法。

关键词 方法比较 回归分析

在临床检验上通常需要检查两测定方法之间的系统差别。为了进行此项工作,由两方法检测同一组样本,在回归分析的基础上,评价系统差别。普通的最小平方法回归分析在计算器和统计软件上就能完成。此方法假定其中之一方法的测定是无随机误差的,即是分析的标准差是零,且另一方法的分析标准差在整个测定范围内是固定的。这两种假定是很难满足的。因此,考虑各择方法代替最小平方法回归分析进行方法比较数据的评价是合理的。在加权最小平方法回归分析中,受到随机误差影响的分析标准差不要求固定。Deming 方法实际上假定两方法的测定受到随机误差的影响;加权

修改的 Deming 方法考虑了两方法非固定的分析标准差,例如,它可假定两方法受到比例测定误差(固定的变异系数)的影响,这在临床检验上是很常见的情况。在本文中,我们介绍了这些回归分析方法的假设条件及计算公式。

1 临床检验方法比较的回归分析 由于临床检验每一方法受到某些随机误差的影响,我们必须区分测定值(x_i)和真或靶值(X_i)。后者是在有限次数上给定样本重复测定的均值。特定的测定值很可能偏离靶值一定的小的“随机”量(ϵ 或 δ)。对于给定的两临床检验方法,对于第 i 个样本: $x_i = X_i + \epsilon_i$, $y_i = Y_i + \delta_i$, 测定值围

绕靶值离散的标准差是分析标准差。分析标准差可以是固定的,即是不依赖于靶值,但通常是随着靶值增加而增加。对于许多化合物,分析标准差近似于与浓度水平成比例,相当于固定的变异系数。在某些情况下,例如,激素的检测,分析标准在低浓度范围时是固定的,导致在这一区域增加的变异系数。当对方法比较研究选择最佳的回归分析时,必须考虑分析标准差与浓度值之间的关系。

如果一组配对测定值 (x_i, y_i) 与靶值 $\{(X_i, Y_i)\}$ 之间在线性关系,则: $Y_i = a_0 + \beta X_i$

每一回归分析要求对数据分布和分析误差有一定的假定。如果违背了这些假定,则统计分析可能是不正确的或不是最佳的。最简单的回归分析,即最小平方回归分析,其依赖于最严格的假定;而最复杂的计算方法,实际上更可能满足所假定的条件。

最小平方回归分析要求方法之一(相当于 x)是没有随机测定误差,另一方法(y)的测定误差在给定水平上具有高斯分布,且标准差在整个测定范围上是固定的。

加权最小平方回归分析允许 y 方法有非固定的标准差,但它仍假定 x 方法没有随机测定误差。引入的权数是与在给定浓度下 y 测定分析标准差平方成反比。

Deming 方法考虑了两方法的测定误差,要求分析标准差之间的比值是已知的。Deming 方法主要用于分析标准差是固定的时候。

加权修改的 Deming 方法考虑了两方法的非固定的测定误差。但它仍要假定分析标准差的比值是固定的。

2 回归方法计算原理

2.1 最小平方回归分析 在 k 对观测值 (x_i, y_i) 的基础上,从离差平方和和交叉乘积和中估计回归线:

$$u = \sum (x_i - \bar{x})^2; \quad q = \sum (y_i - \bar{y})^2$$

$$p = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$$

$$b = p/u; \quad a = \bar{y}$$

$$\hat{Y}_i = a + b(x_i - \bar{x}) = a_0 + bX_i; \quad (a_0 = a - b\bar{x})$$

\hat{Y}_i 是对于给定的 x_i 时获得的“真”值的估计值。

直线分布的标准差如下:

$$SD_{y, x} = \sqrt{\sum (y_i - \hat{Y}_i)^2 / (k-2)}$$

a 和 b 的标准误分别为: $SE(a) = SD_{y, x} / \sqrt{k}$

$$SE(b) = SD_{y, x} / \sqrt{u}$$

由 t 检验来检验斜率和截距的显著性:

$$t = (a - \bar{y}) / SE(a); \quad t = (b - 1) / SE(b)$$

2.2 加权最小平方回归分析 原则上,在计算离差平方和和交叉乘积和上引入权数(W_i)。权数是与给定值下 y 的分析标准差平方成反比。通常假定分析标准差

是“真”浓度($=x$)的函数 $h(\cdot)$,即: $SD_{y, x} = c \cdot h(x_i)$ 其中 c 是比例因子。则 $W_i = 1/[h(x_i)]^2$ 。如果假定变异系数是固定的,则 $SD_{y, x} = cx_i$ (假定 $a_0 = 0$) 及 $W_i = 1/x_i^2$ 。按下式计算回归线:

计算加权平均数: $\bar{X}_w = \sum W_i x_i / \sum W_i; \quad \bar{Y}_w = \sum W_i y_i / \sum W_i$

求加权离差平方和和交叉乘积和:

$$u_w = \sum W_i (x_i - \bar{x}_w)^2; \quad q_w = \sum W_i (y_i - \bar{y}_w)^2$$

$$P_w = \sum W_i (x_i - \bar{x}_w)(y_i - \bar{y}_w)$$

确定斜率和位置参数: $b = P_w / u_w; \quad a = \bar{y}_w$

估计的线性: $\hat{Y}_i = a + b(x_i - \bar{x}_w) = a_0 + bX_i \quad (a_0 = a - b\bar{x}_w)$

计算线性标准差的比例因子(c):

$$c = \sqrt{\sum (y_i - \hat{Y}_i)^2 W_i / (k-2)}$$

确定 a 和 b 的标准误:

$$SE(a) = c / \sqrt{k}; \quad SE(b) = c / \sqrt{u_w}$$

由 t 检验来检验斜率和截距的显著性:

$$t = (a - \bar{X}_w) / SE(a); \quad t = (b - 1) / SE(b)$$

2.3 Deming 回归分析 除了离差平方和和交叉乘积和之外,还需要方法标准差平方的比值:

$$\hat{\lambda} = (SD_{ax})^2 / (SD_{ay})^2$$

假定固定的标准差和给定双份测定(x_{1i} 和 $x_{2i}; y_{1i}$ 和 y_{2i}),分析标准差估计为:

$$(SD_{ax})^2 = (1/2k) \sum (x_{1i} - x_{2i})^2$$

$$(SD_{ay})^2 = (1/2k) \sum (y_{1i} - y_{2i})^2$$

回归线估计如下:

$$b = [(\hat{\lambda}q - u) + \sqrt{(u - \hat{\lambda}q)^2 + 4\hat{\lambda}p}] / 2\hat{\lambda}p; \quad a = \bar{y}$$

$$\hat{Y}_i = a + b(\hat{X}_i - \bar{x}) = a_0 + b\hat{X}_i; \quad (a_0 = a - b\bar{x})$$

2.4 加权 Deming 回归分析 在加权 Deming 回归分析中,在计算离差平方和和交叉乘积和上引入了权数(W_i)。权数是与在给定值下的标准差平方成反比。假定分析标准差是真浓度的函数:

$$SD_{ax} = f_x h_x(X); \quad SD_{ay} = f_y h_y(Y)$$

要使用加权修改的 Deming 方法,必须假定 $(SD_{ax})^2 / (SD_{ay})^2$ 比值是固定的($=\lambda$)。对于给定的分析标准差与浓度之间的比例关系,有可能在低限 L 处截断,以及 $a_0 = 0$ 这种条件是真实的。记住这一模型的对称性,可把权数表达为: $W_i = 1/[(X_i + Y_i)/2]^2$

因为 X_i 和 Y_i 是未知真值,我们必须使用估计值,其可由迭代过程获得: $\hat{W}_i = 1/[(\hat{X}_i + \hat{Y}_i)/2]^2$

实际上,可能最精密的估计是估计值加权平均数的倒数,即是 $1/[(\hat{X}_i + \hat{Y}_i)/(1 + \hat{\lambda})]^2$ 。回归线估计如下:

$$\text{加权平均数: } \bar{X}_w = \sum \hat{W}_i x_i / \sum \hat{W}_i; \quad \bar{y}_w = \sum \hat{W}_i y_i / \sum \hat{W}_i$$

加权平方和和交叉乘积和:

$$u_w = \sum \hat{W}_i (x_i - \bar{x}_w)^2, q_w = \sum \hat{W}_i (y_i - \bar{y}_w)^2;$$

$$P_w = \sum \hat{W}_i (x_i - \bar{x}_w)(y_i - \bar{y}_w)$$

从双份测定中估计比例因子:

$$f_x^2 = (1/2k) \sum (x_{1i} - x_{2i})^2 / [(\bar{x}_1 + \bar{x}_2)/2]^2$$

$$f_y^2 = (1/2k) \sum (y_{1i} - y_{2i})^2 / [(\bar{y}_1 + \bar{y}_2)/2]^2$$

其中 \bar{x}_i 和 \bar{y}_i 是双份测定的均值。

$$\hat{\lambda} = f_x^2 / f_y^2$$

斜率估计值:

$$b = [(\lambda q_w - u_w) + \sqrt{(u_w - \lambda q_w)^2 + 4 \lambda P_w^2}] / 2 \lambda P_w$$

截距: $a = \bar{y}_w$

Deming 方法就是权数为 1 的特殊情况。

以上介绍了临床检验方法比较研究数据分析的四种回归分析方法的假设条件及计算公式,而在具体的应用上,至于选择哪一种回归分析方法,需要考虑每种回归分析方法所假定的条件,这样才能计算出最佳的回归方程。

(收稿:1995—06—12)

限额参数在半自动生化分析仪的应用

张元利 (解放军第十一医院检验科 新疆伊宁市 835000)

限额参数(JADGEMENT)是大中型自动生化分析仪为保证其分析质量而设置的技术限定参数,本文将这一技术参数[杨炳益,等.临床检验杂志,1995;13(2):77]移植于 VIBALAB. UJICVO 型半自动生化分析仪,取得了良好的效果,现将方法介绍如下:

半自动生化分析仪限额参数的设置原理虽然和自动化分析仪基本类同,但测定计算所获得的数据不能完全输入仪器内进行自动化处理,而只能在人工监控下加以控制,以达到保证分析质量的目的。为能区别,本文将 VITALAB. MICVO 型半自动生化分析仪的限额参数称为外限参数。

1 速率法外限参数的确定应用 随着酶促反应时间的延长,反应体系 AI 不断增高(或降低),底物进行性消耗,使 DA/DT 的变化逐渐从稳态进入到非稳态。规定时间内,若反应体系的 AI 超过稳态最高(或最低)限定值,则会将非稳态 DP/DT 纳入计算,引起最终测定结果的错误,设置外限参数(J 外 1),以杜绝上述错误结果的发生;对于较高浓度样品的测定,在遵守 VITALAB. MICVO 型半自动生化分析仪性能要求的前提下,缩短其 MEA. TITE 为 (t_{F1}),应用外限参考数(J 外 2)加以监控,以保证其分析质量;样品浓度过高,越限于 J 外 2 的设置,则仪器无法保证分析质量(测试点 <20),打印超限提示符“!”,样品应稀释重做。如图 1。

由于商品试剂种类繁多,质量各异,决定了不同来源试剂有其自己的外限参数,故绝对不可延用一个批号的试剂参数,套用于其它任何同类试剂。本文以上海长征公司 BUN 试剂盒(LOT: 941234)测定 BUN 为例,设置外限参数。取 BUN 浓度分别为 54mmol/L, 108mmol/L 样品,在 MEEA. TOME 为 20SEO 和 10SEO 条件下,测得样品稳态到非稳态的接点 AI(如表 1),在其它参数不变的情况下,分别将 MEA. TIME20SEO 和 10SEO 所对应的 ABSHIGH0. 607 和

0. 612 编入两个测定序号,以完成外限参数的设置,样品测定依据“!”提示符,依次选用 J 外 1、J 外 2 参数序号测定,直至浓度过高稀释重做。

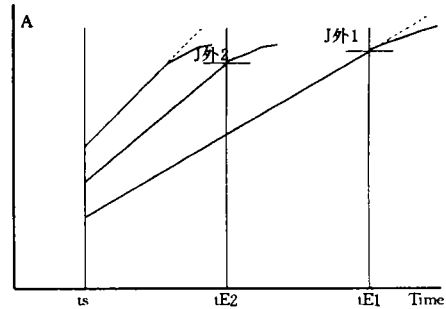


图 1 速率 J 外 1、J 外 2 设定示意图

表 1 BUN 速率法测定 Ai 的变化

Time (s)		BUN(mmol/L)(Lot: 941234)340nm			
		54.0*		108	
		Ai	ΔA	Ai	ΔA
试剂空白 加入样品	20.0	1.531		1.531	
	20.5	1.143		0.984	
	20.5	1.130	0.013	0.968	0.018
	29.5			0.626	
	30.0			0.607	0.019
	30.5			0.597	0.010
	39.5	0.623			
	40.0	0.612	0.011		
	40.5	0.606	0.006		
	40.5				

* 试剂盒线性范围高限浓度

因 VITALB. MICVO 型半自动生化分析仪测定速度为 0.5STO, J 外 2 在 MEA. TIME 为 10SEO 内共有 20 个测定点,且仪器的分辨率为 0.0001AI,高浓度的样品 DA/DT 比值大,从而满足了仪器的测示性