ReguStats 软件使用手册

Version 1.0

2013 年 10 月 27 日制作

中国食品药品检定研究院、沈阳药科大学 版权所有

目　录

第一章 ReguStats 软件介绍 5

1.1 软件概述 5

1.1.1 ReguStats 1.0--“监管统计分析”软件 5

1.1.2 本软件 1.0 版的特点 5

1.1.3 本软件 1.0 版的可靠性 6

1.1.4 关于本软件的命名 6

1.1.5 关于本软件适用对象 7

1.1.6 关于本软件的实例 7

1.1.7 本软件的系统要求 7

1.2 软件安装启动与注册 8

1.2.1 软件安装 8

1.2.2 软件启动 10

1.2.3 软件注册 11

1.3 软件界面介绍 12

1.3.1 软件菜单介绍 12

1.3.2 快捷键功能介绍 19

第二章 程序向导的正确使用 21

2.1 报告内容 21

2.2 统计模型 22

2.3 反应类型 26

2.4 试验设计 26

2.5 计算方法 26

2.6 制表信息 27

2.7 数据变换 29

2.8 异常数据检测 30

第三章 实验数据的管理 32

3.1 定性反应下的数据录入.....32
3.2 定量反应下的数据录入.....34
3.3 合并计算模型下的数据录入.....37
3.4 直接检定模型数据的录入.....38
3.5 效价（A）、稀释倍数（dil）和剂量（dose）的录入.....38
3.6 数据的录入方式.....39
第四章 异常数据检测方法介绍 41
第五章 试验计与计算方法的选择..... 43
5.1 生物检定常用的实验设计.....43
5.2 计算方法的选择.....54
第六章 ReguStats 软件有关功能应用举例 61
6.1 直接检定模型——洋地黄叶粉的效价测定.....61
6.2 量反应平行线模型.....67
6.2.1 平行线完全随机设计——大鼠皮下注射促肾上腺皮质激素的测定.....67
6.2.2 平行线三剂量拉丁方设计——利用矩形托盘测定抗生素琼脂扩散.....77
6.2.3 平行线模型双交叉设计——家兔皮下注射胰岛素的测定.....85
6.3 斜率比模型.....93
6.3.1 斜率比完全随机设计——流感疫苗的体外测定试验.....93
6.3.2 斜率比随机区组设计——流感疫苗的体外测定试验.....100
6.3.3 斜率比拉丁方设计——流感疫苗的体外测定试验.....107
6.4 S 型曲线模型——白喉疫苗的测定试验.....114
6.5 半数反应量模型.....121
6.5.1 ED50 模型 Probit 设计——口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定.....121
6.5.2 ED10，ED50，ED90 模型 Probit 设计下的同时计算——口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定.....127
6.5.3 LD50 模型 Probit 设计——口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定.....131
6.6 合并计算.....137
6.6.1 中国药典中的合并计算——肝素钠的效价测定.....137
6.6.2 欧洲药典中的合并计算——肝素钠的效价测定.....145

6.7 异常数据检测——缩宫素效价测定.....152

第一章 ReguStats 软件介绍

1.1 软件概述

1.1.1 ReguStats 1.0--“监管统计分析”软件

本软件由中国食品药品检定研究院与沈阳药科大学联合设计并开发，目的在于为生物检定试验领域提供一套具有操作简单、统计精确、适用广泛、功能强大的统计分析软件。ReguStats 1.0 版本软件可配套用于中国药典（Chinese Pharmacopoeia---ChP）二部的附录 XIV“生物检定统计法”和欧洲药典（European Pharmacopoeia ---EP）5.3 章“生物检定结果的统计分析”（statistical analysis of results of biological assay and tests）中规定的统计计算（四参数模型除外）。本软件 1.0 版可以统计分析的模型有：平行线模型、斜率比模型、S 型曲线模型、半数反应量计算、合并计算等。

1.1.2 本软件 1.0 版的特点

1、软件采用“向导模式”建立和修改程序。向导使用过程中，对每一步的关键操作都有提示，这对非专业统计人员来说，该功能是非常重要的，防止使用者误操作；软件具有界面简单、人性化强的特点，可以有效地引导使用者正确使用软件。

2、本软件 1.0 版特有分析功能：

- 具有数据异常值预处理和实验数据补充的功能。软件中包括了中国、美国、欧洲等药典中经典的处理异常值方法，同时对剔除的异常值按照不同试验设计给出对应的数据补充方法，克服了人为判别异常值的难度。
- 具有定性资料的 S 型曲线 ，有 Probit、Angle、Gompit、Logit 四种变换的计算，同时优化其算法，使其适应于所有的频率（或频数）计算（包括有 0 和 1 的频率）。
- 具有同时计算与分析半数反应量（反应剂量、反应浓度）的功能，可以同时计算 1%-99%之间任意多个反应值，特别适合当今国际比较常用的反应量 1%、50%、99%值的同时计算；包括了半数致死量（率）（LD50、LC50）、半数有效量（率）（ED50、EC50）、半数抑制量（率）（ID50、IC50）的计算。
- 具有中英文两种分析报告输出功能，适合于发表英语论文所需的统计分析报告，也便于国际交流和应用。

- 支持数据表格内输入计算公式，极大方便实验者的数据录入和整理。
- 增加了各种回归曲线与校正曲线对比图，使用者会更加直观地察看出校正前后的图形差异情况，有利于统计结果的分析。
- 在“合并计算”中，增加了频率分布图、合并后置信区间图；图中包括总的置信区间与各实验室的置信区间，使用者更加直观地察看出各实验室数据的差异，为统计分析结果提供更加可靠的论据。

1.1.3 本软件 1.0 版的可靠性

本软件采用最为流行的 C#语言编写，在多个系统平台中进行测试，运行稳定、结果可靠。本版软件附带大量**“实例”**，这些实例包括两个部分：一部分来自中国药典和欧洲药典中相关附录章节的实例，这些实例既是对本软件的性能可靠性进行确认，证明其可以根据附录规定的统计要求进行精确统计计算，也是对规范化实例在本软件中使用的一种演示和学习样本。另一部分实例来自药典实例的变形或者是日常工作中的典型实例，这部分实例放入的目的是用更广泛的实例与国内外相关专业软件的统计分析结果进行了比较，进一步验证本系统应用的广泛性、实用性、可靠性，并指导大家去使用。本软件刚刚诞生，它的可靠性和实用性还需要一个漫长的确认过程，我们今后将陆续增加更多的实例，开发更多的统计功能，更希望各界同仁给我们提出宝贵的意见，尽快完善软件性能，更好地服务于医药监管统计领域。

此外，在设计本软件时，已经考虑到对软件总体的规范性要求，在开发过程中尽量使其满足 21CFR Part11 和 software validation 的国际规范，特别对电子记录和电子签名等可信性问题。

1.1.4 关于本软件的命名

本软件用 ReguStats 作为名称，其寓意即为监管统计学（Regulatory Statistics）。它是一门以服务于近 20 年来刚刚建立的“监管科学”这一新学科而形成的一个统计学分支学科。由于药典中描述的实验方法（assay）通常对所用统计方法进行了详细阐述，如平行线分析法、Probit 分析法等；这些统计方法或模型虽然不能认为是最精密的数据处理方式，但其适用性已经被许多实验室联合评价多年，且已经收载于法规和指导原则中，故，这里所描述的统计方法可以被认为是为了监管需要（regulatory purposes）。这里要强调的是，ReguStats 并非用于科学研究的首选统计软件，但它可以用于该使用目的。目前该软件仅收载了中国药典和欧洲药典中已有生物活性测定实验的统计方法，未来将不断补充，使其适应更多的监管统计需要。

1.1.5 关于本软件适用对象

- 为专业的统计人员提供结果参考和比较。对于专业从事统计研究的技术人员，他们是很精通统计计算方法和原理，可以完成大部分的统计分析计算，但统计分析计算将会浪费掉他们很多时间。本软件的出现，只需人为简单操作就可以自动运行大型的模型算法，结果更加精确，节省大量时间。
- 为非统计专业的使用者提供统计分析的工具。非统计专业的使用者通常统计学基础较弱，可是工作中他们需要进行实验数据分析处理，且无法得到专业统计人员帮助的。本软件会提供自动计算功能，特别适合于药典正文中的品种的统计计算。只要你会使用 Window，且具有一些有关（生物活性测定）实验的统计解释知识，都可以方便地使用。

1.1.6 关于本软件的实例

本软件采用大量各国药典中的实例和实际中典型的实例。应该强调指出，采用这些实例并非想告诉你，对这些实例中的特殊数据采用本软件进行处理是最佳（适）方式，而是想通过这些实例来提供一些可能的配置方式，用来在本软件上处理你的数据，使您更快的学会该软件的各种功能。

1.1.7 本软件的系统要求

具有 Pentium 3.0 GHz 或以上的处理器

512MB 以上的 RAM

300M 以上的自由硬盘空间

Microsoft Windows (Version 98, Me, NT, 2000, XP, Vista, 7)

32-bit 彩色 SVGA 显示器

注意：由于各计算机的硬件配置不同，即使满足上述要求的条件，我们不能保证该软件总是与您的特殊配置想兼容。通过 ReguStats 建立起来的文件具有文件扩展名 syphu。如果在软件运行中，您遇到了问题或者有宝贵的意见，欢迎与我们联系。

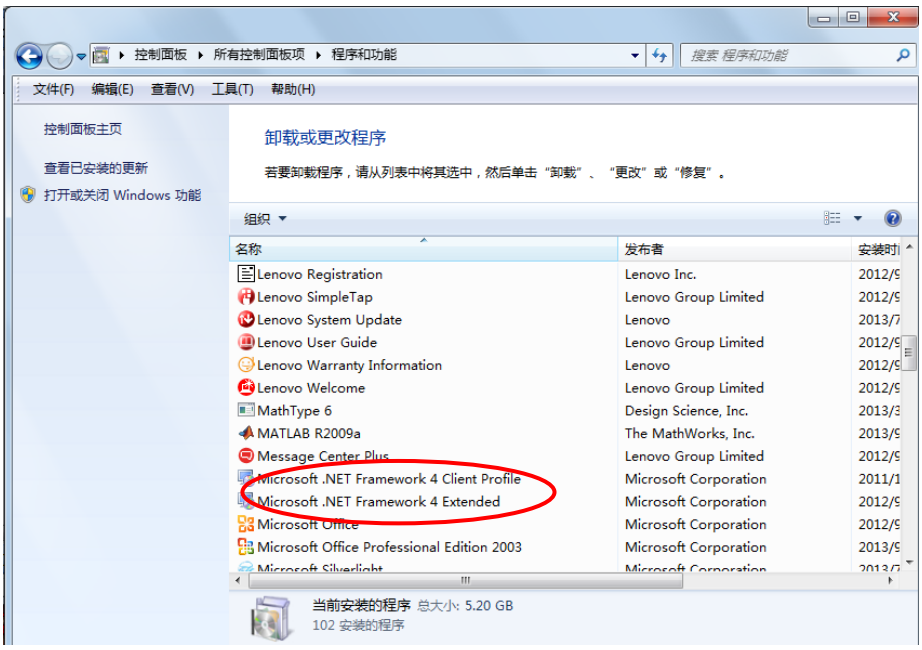
E-mail：Biostats_infosoft@163.com。

1.2 软件安装启动与注册

1.2.1 软件安装

㈠ 软件安装环境

ReguStats 软件必须在 Windows 具有 Microsoft.net Framework4 环境下安装运行，Win7 系统自带该软件，若是在 WinXP、Win2003 等系统中安装该软件，应首先下载 Microsoft.net Framework4 并安装。操作者可以在首次安装时打开电脑的“控制面板”查看“程序卸载或安装”里是否有 Microsoft.net Framework4 软件：

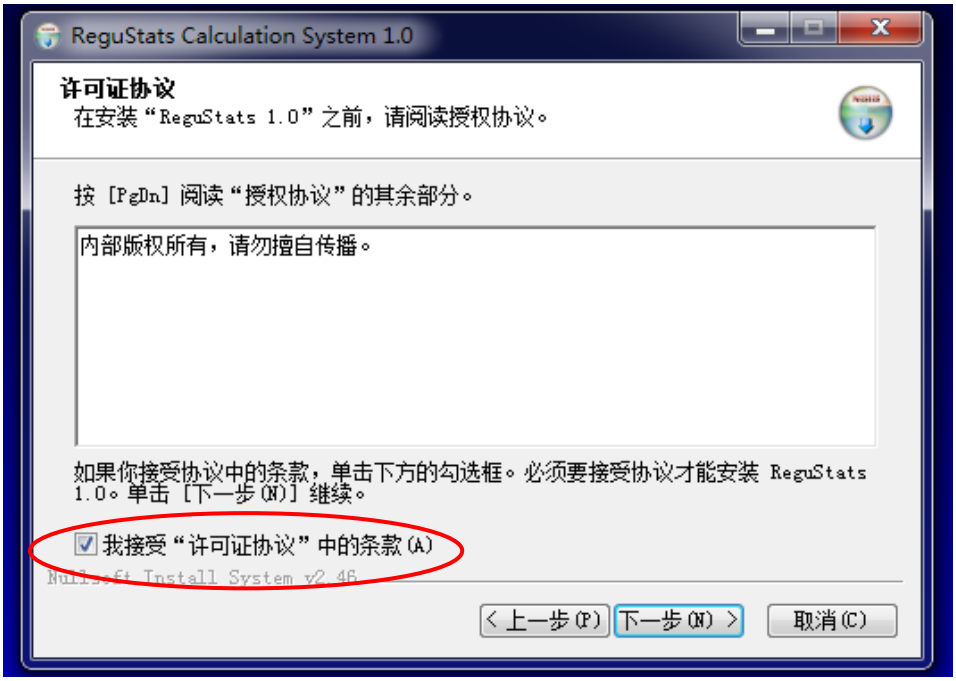


㈡ 软件安装步骤

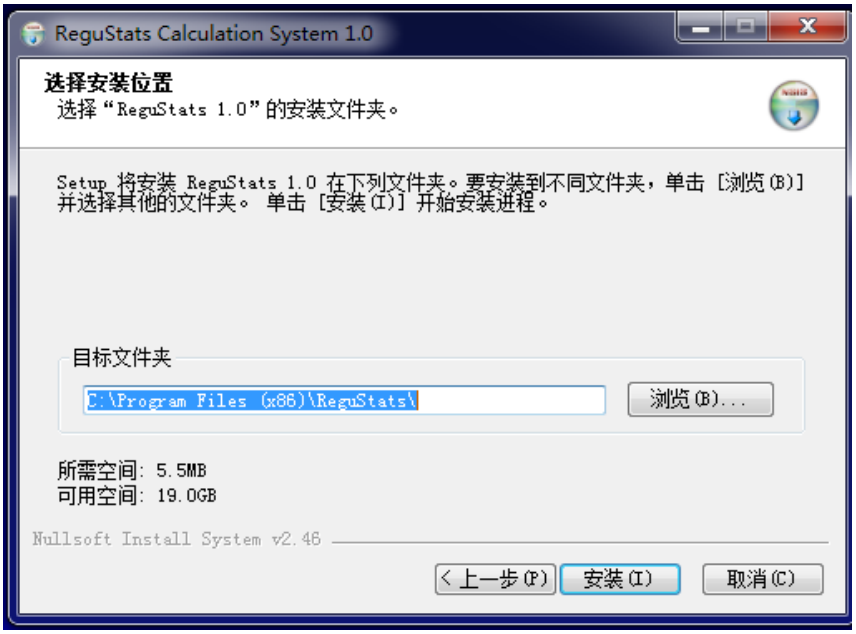
① 打开 ReguStats 软件源程序，进入如下界面：

② 点击“下一步”，进入许可证协议对话框，点击“我接受许可证协议”

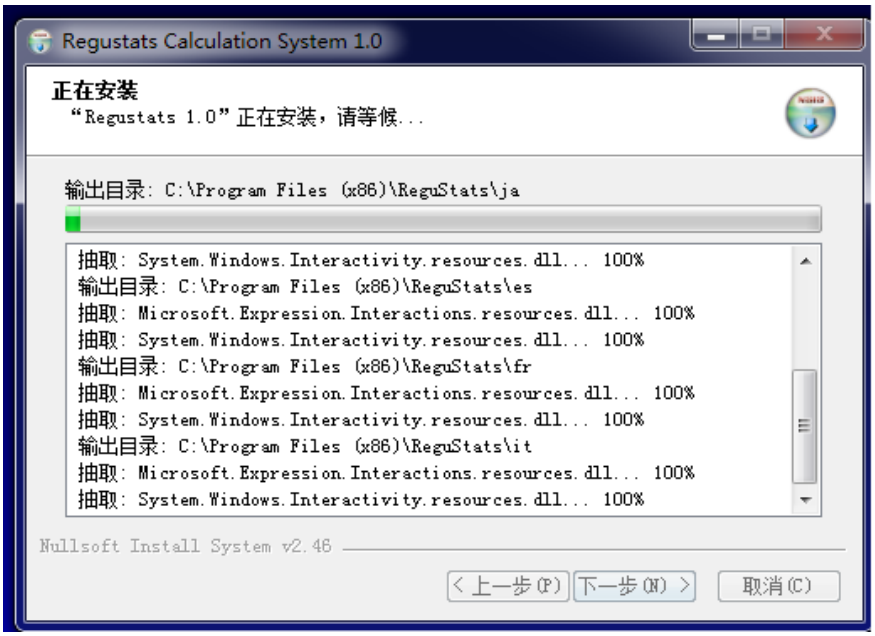
前的空白方框，空白方框内会出现√，否则“下一步”按钮为灰色，无法进入下一步：



③ 点击“下一步”，进入“选择安装位置”对话框，软件默认安装位置为“C:\Program Files(x86)\REGUSTATS\”，操作者也可以点击本对话框中的“浏览”，自行选择安装位置：



④ 点击“安装”，出现如下安装界面：

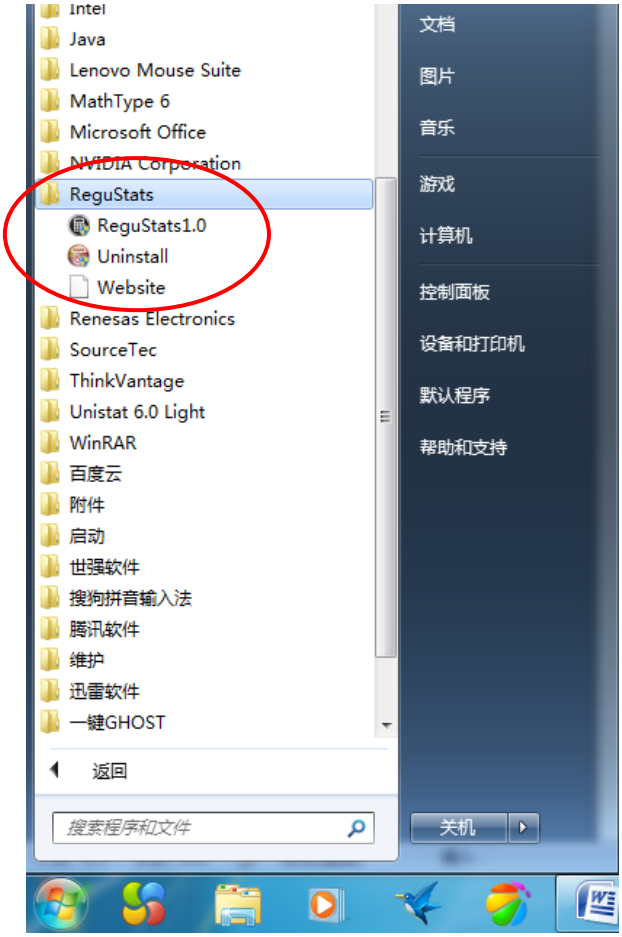


⑤ 安装完成后，出现如下对话框，点击“完成”按钮即可运行 ReguStats 软件：

1.2.2 软件启动

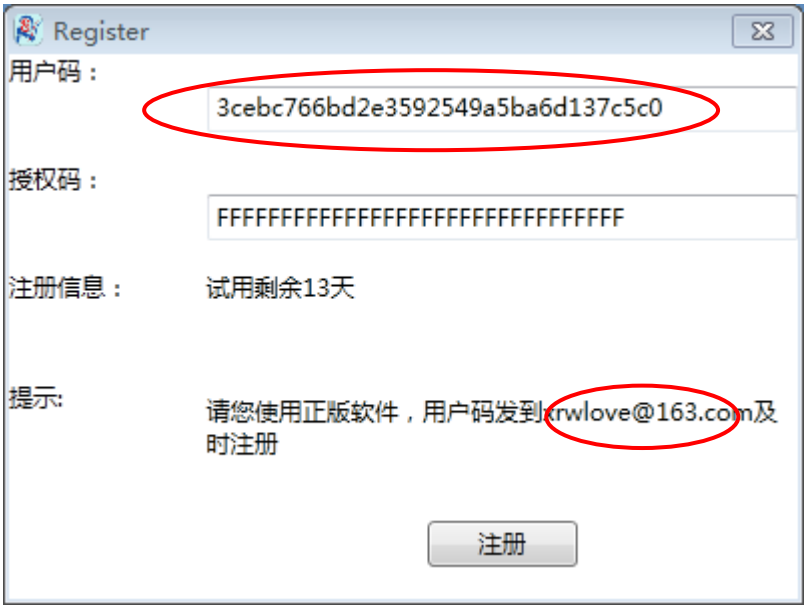
软件安装成功后，会在计算机桌面上显示 ReguStats 的快捷方式

，双击此快捷图标，即可启动该软件；也可以点击“开始”菜单，选择“ReguStats1.0”程序，如下图所示：



1.2.3 软件注册

安装完该软件后，首次启动时，将会出现如下“注册”对话框：



请把对话框内显示的“用户码”发送到信箱：xrwlove@163.com，将反馈到的授

权码输入，点击“注册”即可。若无注册的话，软件将提供一定的试用期，供使用者体验。

1.3 软件界面介绍

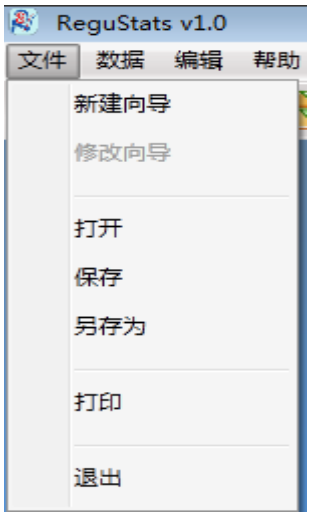
1.3.1 软件菜单介绍

安装完成并运行的软件界面如下图所示：

该软件有 4 个一级菜单：文件，数据，编辑，帮助。

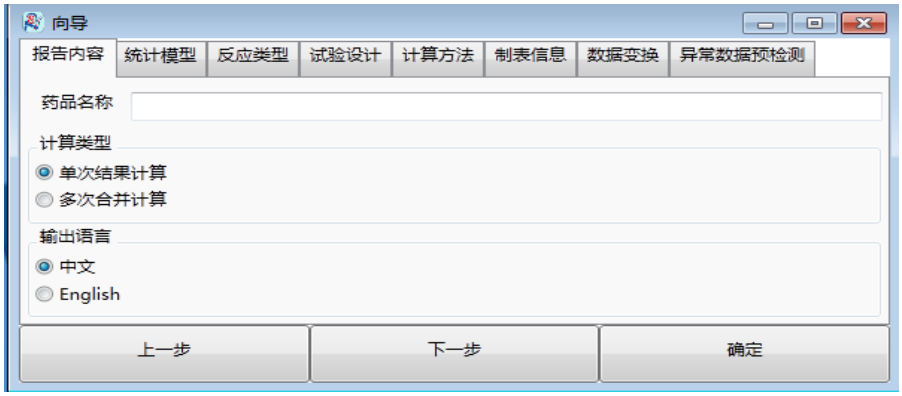
㈠ 文件菜单

点击菜单中的“文件”，出现二级菜单下拉框如图所示：

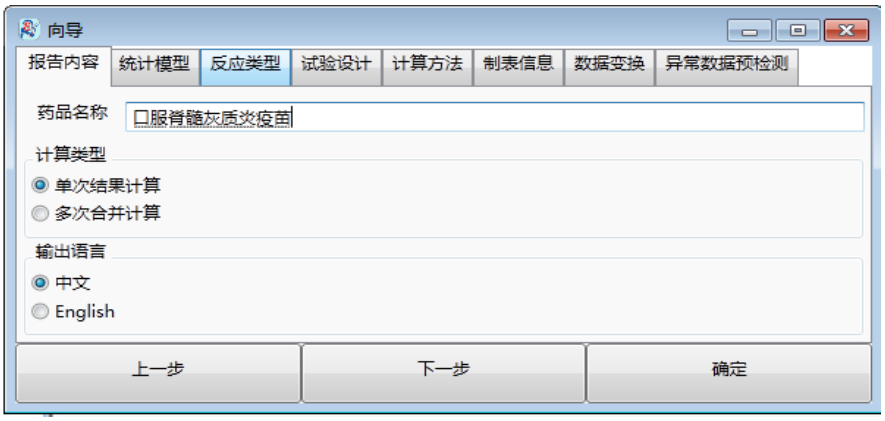


① **新建向导**：用来建立一个符合试验要求的统计分析模板程序。点击之

后会出现如下向导：



② **修改向导：**用来对已保存的统计分析模板程序进行修改。如果软件此时已经打开一个模板程序则该项可以点击，点击之后如下所示，可以进行内容修改：



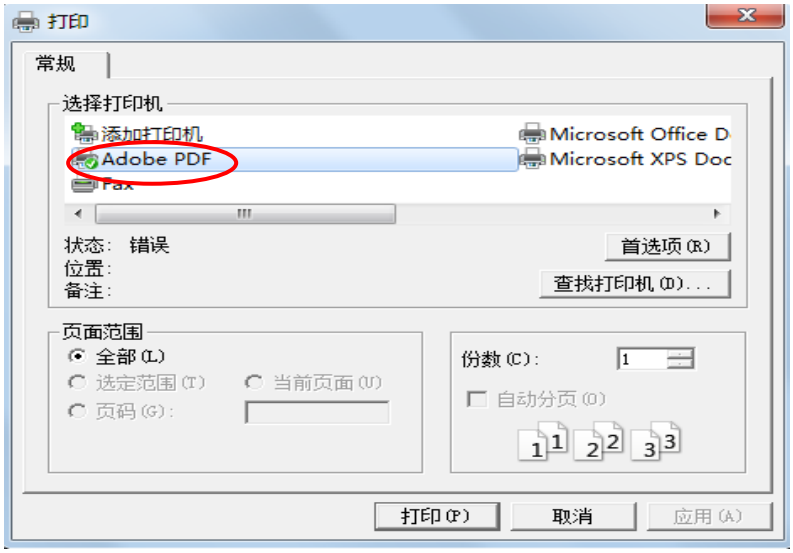
注意：若软件没有打开某个模板程序，则该项菜单为灰色，无法点击。

③ **打开：**单击后用来打开已保存的**模板程序**。

④ **保存：**用于保存新建的或已修改的统计分析模板程序。

⑤ **另存为：**对原向导进行修改后保存为另外一个文件，并且不改变原向导的存储位置和内容。

⑥ **打印：**程序运行后，对数据和运行结果进行打印，单击后出现如下对话框，本软件只支持 pdf 打印和在线打印，因此电脑中必须下载 pdf 打印软件才可进行打印。例如打开一个模板程序并运行，若需要打印其数据和运行结果，可以点击“打印”按钮，结果如下显示，选择打印机一栏选择“Adobe PDF”选项或找到自己的打印机进行打印：

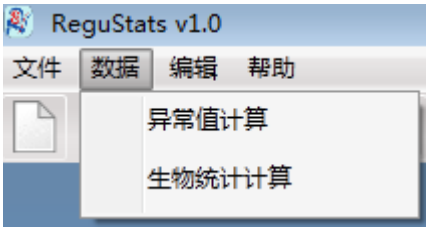


点击“打印”，系统会把数据和运行结果生成一个 pdf 文档，保存该文档并打印即可。

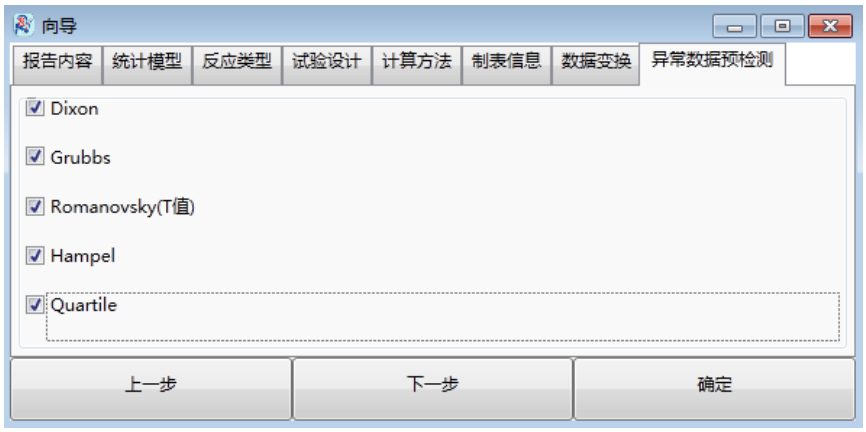
⑦ **退出：**点击后退出 ReguStats 软件程序。

㈡ 数据菜单

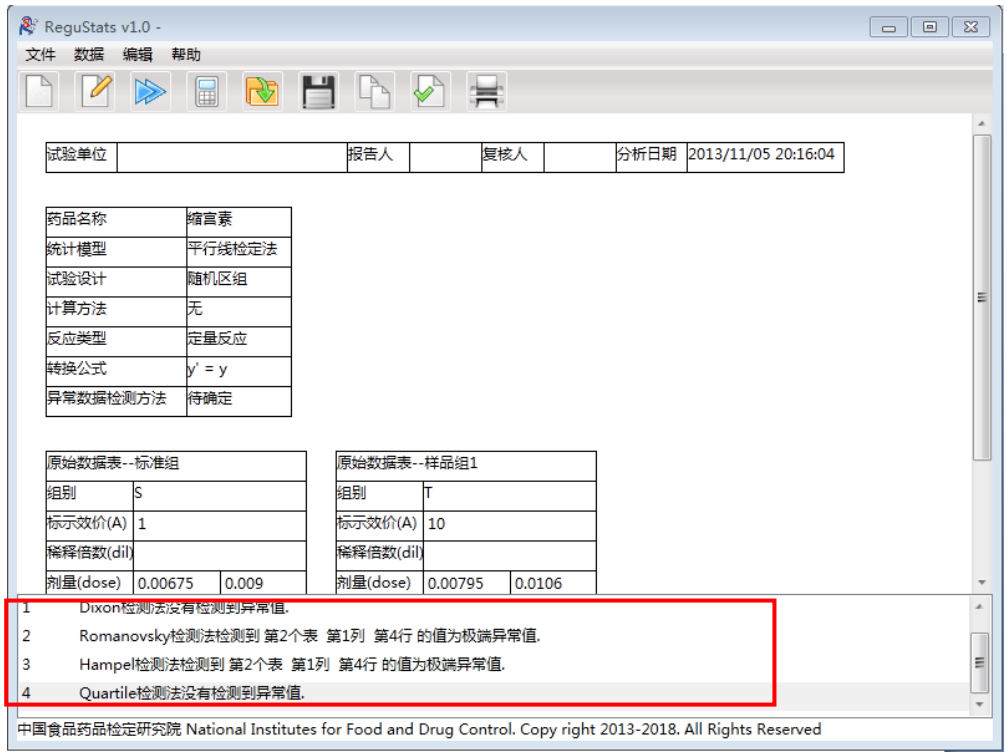
点击菜单中的“数据”，出现二级菜单下拉框如图所示：



① **异常值计算：**打开一个已保存的模板程序后，单击“异常值计算”，软件便根据向导中异常值检测的设计，针对该模板程序中的数据进行异常值检测。如果向导中没有要求进行哪种异常值检测，则单击“异常值计算”或点击按钮 ，软件是不进行任何操作的。例如，打开一个模板程序中设计异常值检测的例子，该例子的向导显示，可以就下面五种异常值检测方法对数据进行异常值检测：



打开该模板程序后，点击菜单中的“异常值计算”，得到如下结果，红色框内的结果为运行的异常值检测结果：



注意：向导的“异常值数据检测”可以选择多个同时检测，每个方法的应用条件请参考第四章，当出现复杂情况时，请咨询相关专业统计人员。

② **生物统计计算：**在打开的模板程序数据中，点击该菜单选项，出现如下对话框：

若向导中设计了异常值检测，则在该项中选定某一个要用的异常值检测方法（选择哪种检测方法最优，最好咨询专业人员），然后点击“确定”，软件便针对打开的数据，根据向导的要求进行统计分析，给出生物检定统计分析结果。

若是向导中没有设计异常值检测，则在该项中选择“NULL”然后点击“确定”，或不做任何选项直接点击“确定”，程序将在无任何异常值检测的条件下，按照向导的要求给出生物检定统计分析结果。也可以在这里临时设置异常值的检测方法，则统计结果会先进行异常值检测，然后进行统计分析。

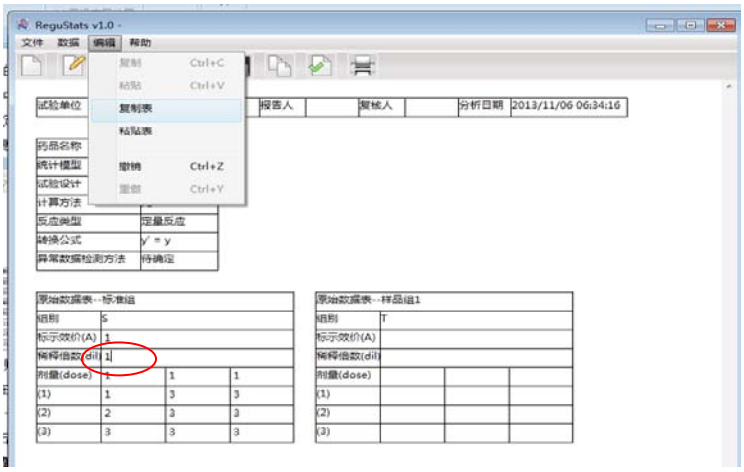
㈢ 编辑菜单

该菜单主要是在数据输入过程中对数据或表格进行编辑使用，点击菜单中的“编辑”，出现二级菜单下拉框如图所示：

① **复制**：针对已输入的一个试验数据（一个数据格内的数据），进行复制，相当于键盘中的“Ctrl+C”按键的功能。

② **粘贴**：针对已复制的一个试验数据，进行粘贴，相当于键盘中的“Ctrl+V”按键的功能。

③ **复制表**：针对已输入数据的一个表格，复制该表格中所有的数据。复制时，将鼠标在要复制表格中的任何位置处点击一下，将光标位于该表格中，点击“复制表”，则该表中的所有数据就复制到电脑的剪贴板中。具体操作如下图所示，将光标定位在 S 表格中的任意位置，单击复制表，就把 S 表格中的 14 个数据复制到剪贴板中：



④ **粘贴表**已复制的数据可以粘贴在该软件的另一个表格中，也可以粘贴在 Excel 文档中，也可以粘贴在 word 文档中。

若是粘贴在 ReguStats 的另一个表格中，则在复制表之后，将鼠标在另一个表格中点击一下，然后点击“粘贴表”。

注意：此时鼠标点击的位置，就是系统在粘贴时的开始位置。该位置一般应在标示效价一行上。

以上述复制表中的例子为背景进行介绍：复制表后，若是将鼠标在 T 表格中的标示效价处点击，然后选择“粘贴表”，会出现以下粘贴效果：

原始数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	1		
稀释倍数(dil)	1		
剂量(dose)	1	1	1
(1)	1	3	3
(2)	2	3	3
(3)	3	3	3

原始数据表--样品组1			
组别	T		
标示效价(A)	1		
稀释倍数(dil)	1		
剂量(dose)	1	1	1
(1)	1	3	3
(2)	2	3	3
(3)	3	3	3

复制表后，若是将鼠标在 T 表格中的剂量一栏的第一个剂量空格处点击，然后选择“粘贴表”，会出现以下粘贴效果：

原始数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	1		
稀释倍数(dil)	1		
剂量(dose)	1	1	1
(1)	1	3	3
(2)	2	3	3
(3)	3	3	3

原始数据表--样品组1			
组别	T		
标示效价(A)			
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)	1		
(1)	1		
(2)	1	1	1
(3)	1	3	3

若是将 ReguStats 软件中表的内容粘贴到 Excel 或 Word 文档中，则“复制表”完成后，直接在 Excel 中点击键盘“Ctrl+V”即可。若是将 Excel 或 Word 文档中的数据内容粘贴到 ReguStats 中的空白表格，则直接对 Excel 或 Word 文档中的数据选择后点击键盘“Ctrl+C”复制，然后点击 ReguStats 软件中的空白表格，点击“粘贴表”即可。

注意：此时鼠标光标在 ReguStats 软件空白表格的点击位置，数据的粘贴是从该位置开始往后粘贴。

⑤ 撤销

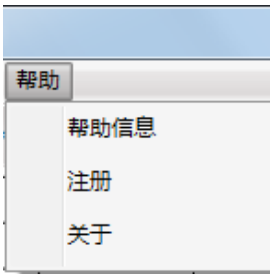
在输入数据时，如果所做的操作不合适，而想返回到当前结果前面的状态， 则可以通过“撤销”功能实现。“撤销”功能可以保留最近执行的操作记录，用户可以按照从后到前的顺序撤销若干步骤，但不能有选择地撤销不连续的操作，该操作只对单数据操作有效，对复制表和粘贴表无效。

⑥ 重做

对已撤销的内容按照撤销顺序由后往前重新操作，该操作只对单数据操作有效，对复制表和粘贴表无效。

㈣ 帮助菜单

点击菜单中的“帮助”，出现二级菜单下拉框如图所示：



① **帮助信息：**即帮助文件，单击后针对本软件展开详细的用法介绍，并结合实际背景例子进行操作演示。用户也可以下载保存，以便日常使用。

② **注册：**本软件的注册信息。

③ **关于：**软件版本说明。

1.3.2 快捷键功能介绍

软件快捷键都在菜单栏下方显示，如下图红色框所示：

ReguStats1.0 版软件共有 8 个快捷功能键：

① ：新建向导

具体功能等同于“文件”菜单中的“新建向导”，可查阅 1.3.1 节中的“新建向导”菜单功能。

：修改向导

具体功能是文件保存后,可以对文件中的相关数据进行直接修改。

② ：异常值计算

具体功能等同于“数据”菜单中的“异常值计算”,可查阅 1.3.1 节中的“异常值计算”菜单功能。

③ ：生物统计计算

具体功能等同于“数据”菜单中的“生物统计计算”，可查阅 1.3.1 节中的“生物统计计算”菜单功能。

④ ：打开数据文件

具体功能等同于“文件”菜单中的“打开”，可查阅 1.3.1 节中的“打开”菜单功能。

⑤ ：保存数据文件

具体功能等同于“文件”菜单中的“保存”或“另存为”，可查阅 1.3.1 节中的“保存”或“另存为”菜单功能。

⑥ ：复制表

具体功能等同于“编辑”菜单中的“复制表”，可查阅 1.3.1 节中的“复制表”菜单功能。

⑦ ：粘贴表

具体功能等同于“编辑”菜单中的“粘贴表”，可查阅 1.3.1 节中的“粘贴表”菜单功能。

⑧ ：打印

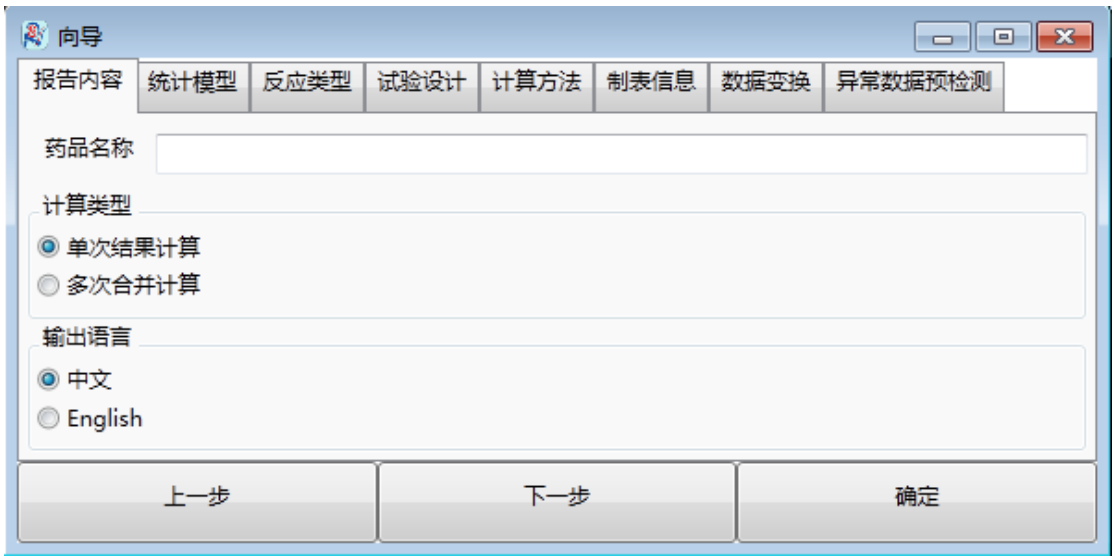
具体功能等同于“文件”菜单中的“打印”，可查阅 1.3.1 节中的“打印”菜单功能。

第二章 程序向导的正确使用

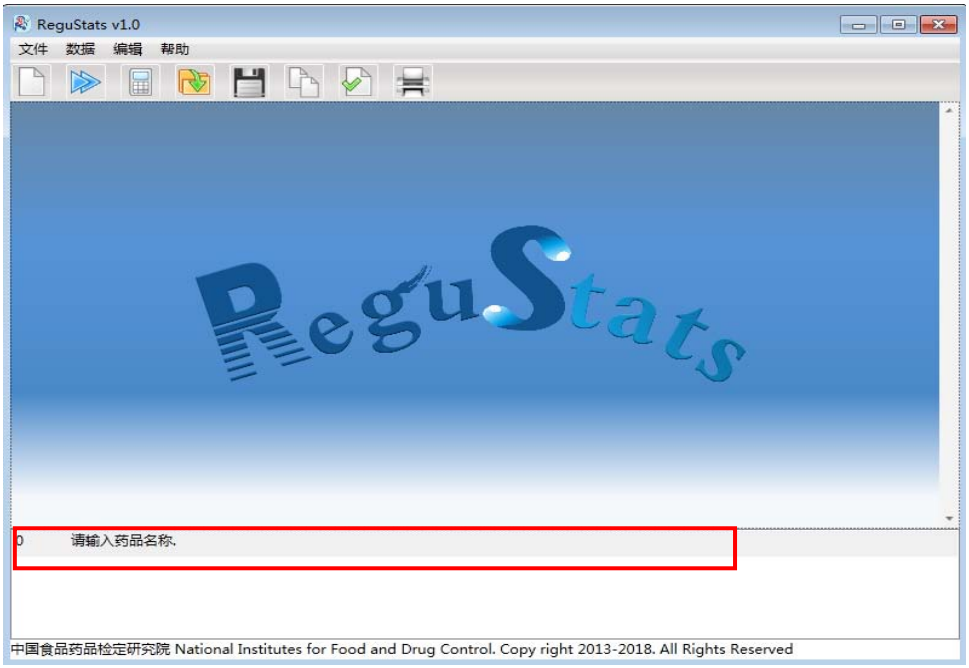
ReguStats 软件运行都是基于程序的向导要求进行的，向导中涉及到了统计指定的计算模型、试验的反应类型、试验设计、计算方法、试验组数、剂量数和每个剂量下试验的重复次数，以及试验数据变换和数据的异常值检测等。在这一系列的向导信息中，包含了某个药品试验的所有已知信息，向导完成后输入数据并运行，便得到了统计分析结果。本节将针对向导中的各个信息对话框展开介绍。

2.1 报告内容

点击新建向导后，便出现如下向导对话框：



① **药品名称：**试验的药品名称，为必须填写内容，否则向导无法继续往下编写，系统会在主界面提示请输入药品名称：



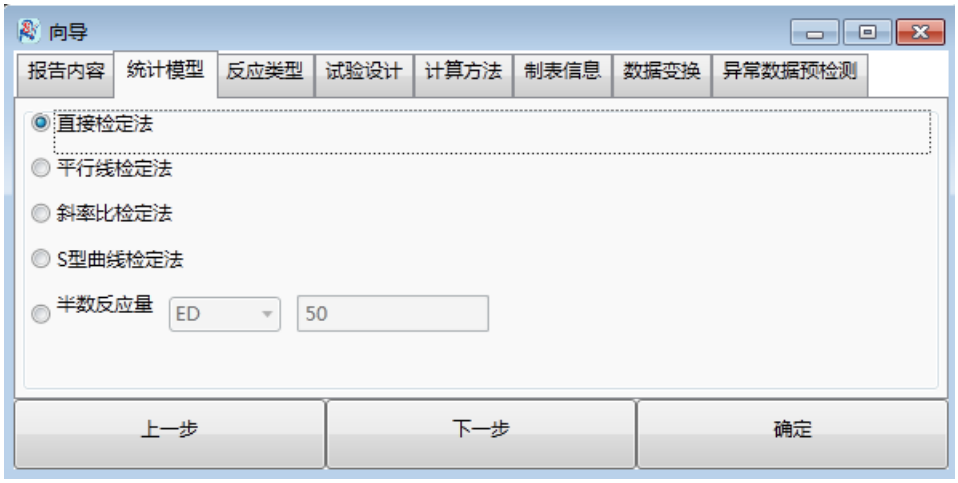
② **计算类型：**单次结果计算和多次合并计算，根据试验要求自行选择。“单次结果计算”是指某一次实验的原始结果进行的统计计算；“多次合并计算”是指多个实验室的同类结果进行合并的计算。

③ **输出语言：**对药品的统计分析结果选择中文显示或英文显示。本软件设置中英文输出，其目的是便于用户统计报告的国际化应用。

此项完成后，单击下一步，进入统计模型：

2.2 统计模型

统计模型向导如下所示，选择合适的统计分析模型，单击下一步：



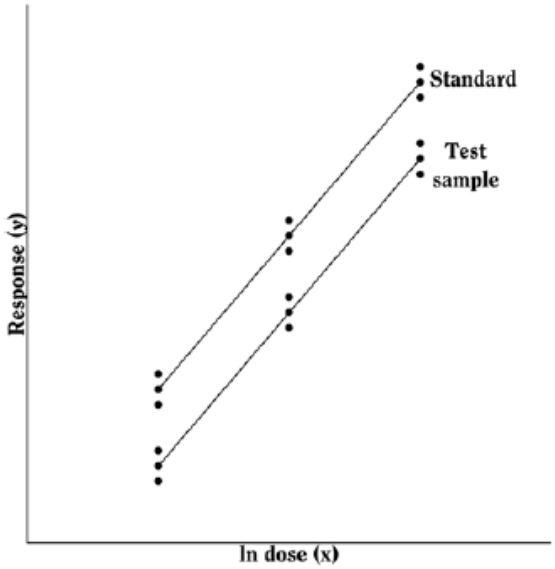
1. **直接检定法：**直接测得药物对各个动物最小有效量或最小致死量的检定方法。如鸽法测洋地黄最小致死剂量实验；目前该类实验已较少使用。

2.平行线检定法：在生物检定统计中，平行线检定模型必须满足以下两点：

① 剂量的对数和该剂量下的响应值【Response—ln(dose)】之间的关系可以通过所用剂量范围内的直线表示；

② 对于检定试验中的未知制剂，其 Response—ln(dose)模型中的直线平行于标准组制剂的直线。

平行线检定模型可用下图说明：



横轴表示剂量的对数，从左至右依次增高。纵轴为响应值。黑点表示为该对数剂量下每次处理中的响应值。两条线分别表示标准组与测试组的 Response—ln(dose)关系图。

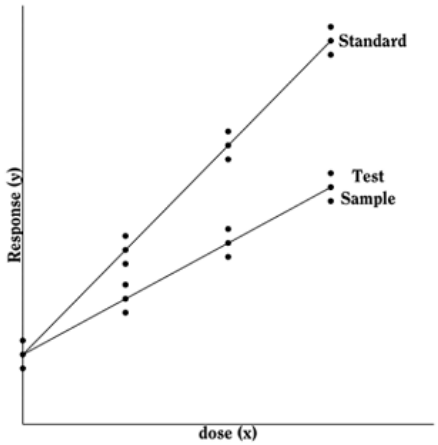
测试样本的假定效价（也叫估计效价）应尽可能的接近真实效价。在这一假定效价与标准组指定效价的基础上，各组进行相同程度的稀释。对未知制剂的假定效价越接近标准品标示效价，两条线越接近；反之，两线之间的水平距离越大，则假定效价与标准品的标示效价相差越大。

3. 斜率比检定法：在生物检定统计中，斜率比检定模型必须满足以下两点：

① 剂量值和该剂量下的响应值（Response—dose）之间的关系可以通过所用剂量范围内的直线表示；

② 对于检定试验中的未知制剂，其 Response—dose 关系图中的直线与标准组制剂的直线有共同的交点，出现在 y 轴上（即在 0 剂量处相交，检验中所有未知制剂的响应函数必须与标准组制剂的响应函数有相同的截距）。

该模型适用在最优的介质浓度时，独立变量为必需生长因子浓度的微生物学分析，下图为斜率比检定模型下，试验组与标准组的剂量反应关系图：

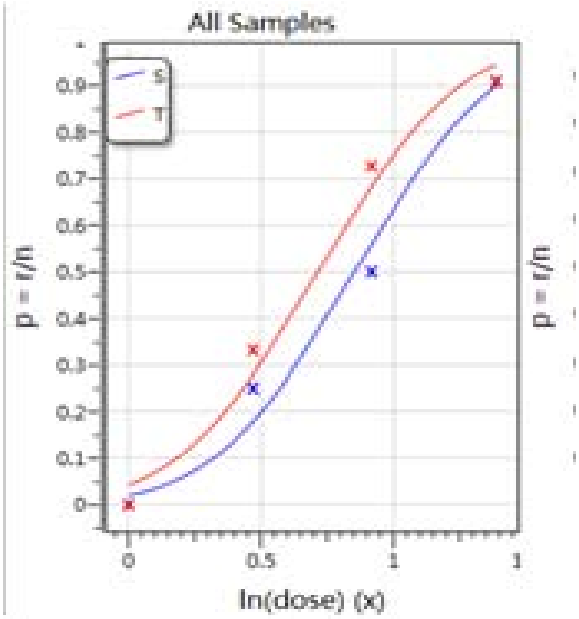


横坐标由左至右代表剂量浓度由 0 至最大，纵坐标代表响应值。图中的黑点代表该剂量下重复多次试验的多个响应值。图中 S 组与 T 组两条直线为假定相交于零剂量时计算得到的标准组和测试组的剂量反应关系。

这里要求假定效价要与真实的接近，假定效价越接近真实值，这两条线也就越接近，标准组药品和试验组药品须相同程度的稀释。斜率的比值代表相对于假定效价未知的“真实”效价。如果试验组 T 组的斜率比标准的大，则说明将值低估了，计算结果将显示估计的效价高于假定的。同理，如果未知组的斜率比标准组的缓，效价被低估，计算会导致估算的效价比假定的值低。

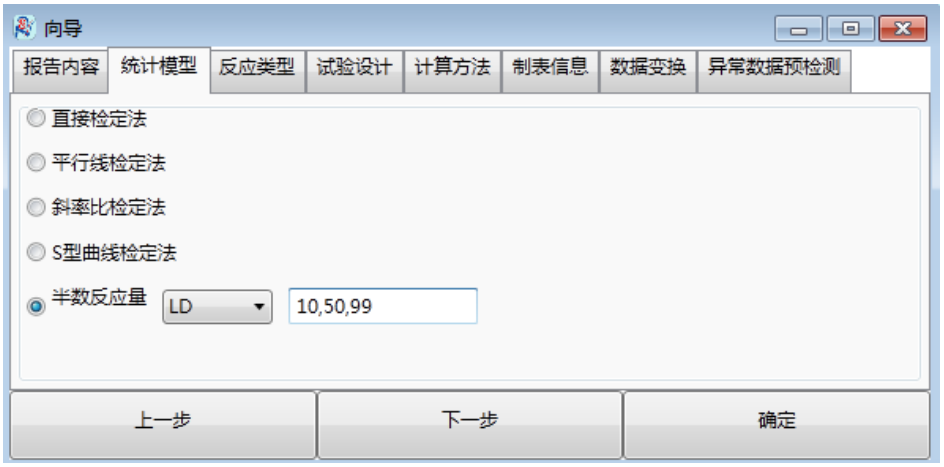
4. S 型曲线检定法：该类型检定法已经越来越多的在实际中应用，它包括定量资料的 4 参数模型和质反应资料的 S 曲线模型。关于定量资料的四参数模型暂不在本版本中，不再叙述。这里只介绍质反应资料的 S 曲线法,具体如下:

在某些检验中，实验结果为在每组中被观察到发生个数，如死亡个数或低血糖个数，结果取决于发生的单位数量。这样的测定叫做质反应或定性反应。与量反应不同的是，在质反应中记录的不是每个单位的响应值，而是一组实验中的实验总数和发生的个数。S 型曲线的质反应图形如下所示：



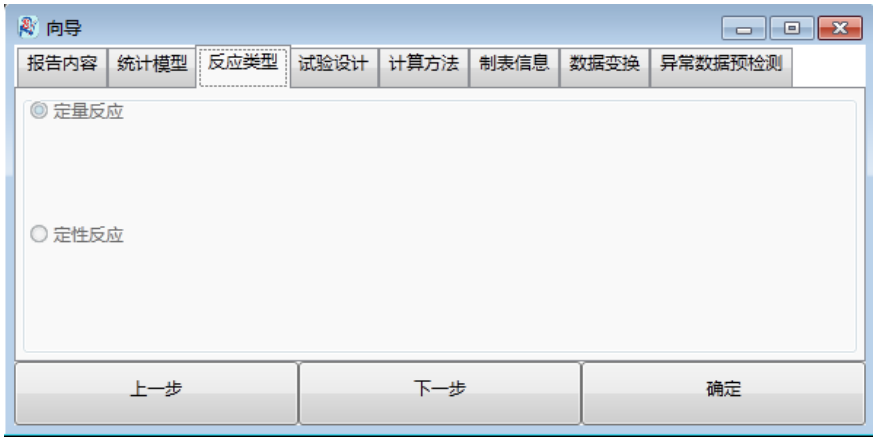
纵轴为发生单位的比例数，横轴为剂量的对数，曲线将趋向 S 形而不是线性的。代表 S 形曲率的一个数学函数被用来评价剂量反应曲线。最常用的函数是累积正态分布函数（Probit 曲线函数）、Logit 曲线函数。

5.半数反应量检定模型：在药物的研究或质量评定中，常以半数反应量（半数有效量、半数抑制量或半数致死量）作为标志，来衡量一个药物的疗效或毒性强弱。半数有效量（ED50）指使半数动物产生某种反应的剂量；如果以动物的死亡出现表示反应，则为半数致死量（LD50）； ED50 和 LD50 的原理和测定方法完全相同。在软件操作时，半数量反应一栏后面的下拉框里可以自行选择 ED，LD，ID（抑制剂量），EC（有效浓度），LC（致死浓度），IC（抑制浓度），该类型后面的数字框内，可以自行键入 1~99 的整数，也可以输入多个数字，以逗号隔开，此时系统将同时基于多个比率下的半数量反应模型进行生物检定统计分析，例如：



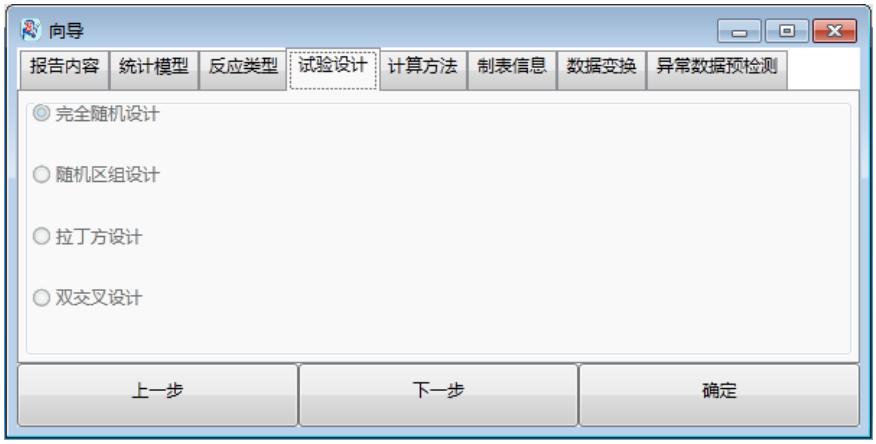
2.3 反应类型

选择适合的反应类型：定量反应（连续数据）或定性反应（频数数据），这些信息在试验中或数据中能够体现出来，若选项为灰色的话，说明该模型暂不支持这种反应类型或该项不用选择,如下图所示：



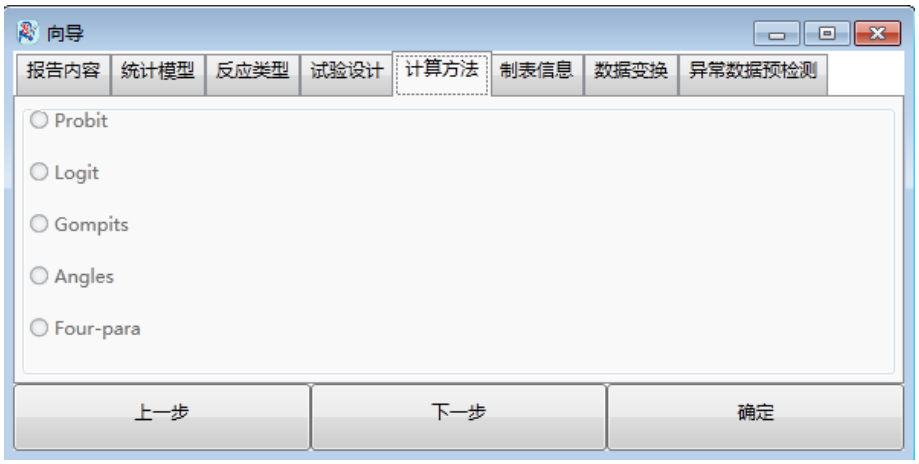
2.4 试验设计

根据试验选择合适的试验设计类型，若为灰色选项，说明向导中已选中的统计模型下不能用该设计（详细设计说明请见第五章描述）：



2.5 计算方法

根据试验要求选择合适的计算方法，只有在 S 型曲线模型和半数反应量模型中，计算方法才可以选择，在其他检定模型中，该选项均为灰色，不能选择（详细方法说明请见第五章描述）。



2.6 制表信息

这里涉及到 3 个数字的填写：表数（组数）、行数（重复数）和列数（剂量数）。下面针对不同情况介绍在 1.0 版中制表信息项的填写：

① **关于定性数据：**半数量反应模型和 S 型曲线的定性反应均为定性反应模型。

(i) 表数：半数量反应的表数该版本只支持 1 个表格，S 型曲线可支持多个表格，其表数代表所安排的试验组数；

(ii) 行数：定性数据的行数均为 2，其中第一行为该剂量下试验的个体总数，第二行为试验个体的有效个数；

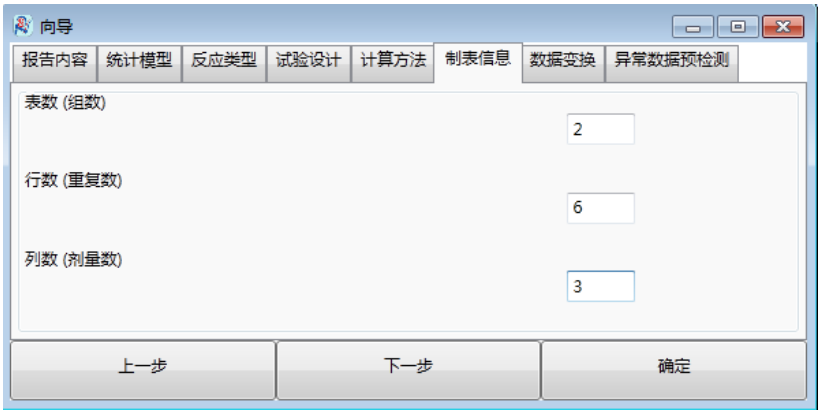
(iii) 列数：列数代表了每组试验中所安排的剂量数。

②**关于定量数据：**除了半数量反应模型和 S 型曲线下的定性反应，其余反应模型多为定量反应模型。下面结合试验设计和统计模型介绍定量数据下的制表信息的填写：

（i）完全随机设计、随机区组设计：定量反应下的完全随机设计和随机区组设计，其制表信息中的表数代表了试验所安排的试验组数；行数代表了在每个剂量下所安排的试验次数（或叫重复次数）；列数代表了每组试验中所安排的剂量数；

（ii）拉丁方设计：其制表信息中的表数代表了试验所安排的试验组数；行数代表了在每个剂量下所安排的试验次数（或叫重复次数）；列数代表了每组试验中所安排的剂量数；由于生物检定统计中的拉丁方设计采用的拉丁方表为方阵，所以在这里行数要求“表数×列数=行数”，这样才能保证生成的空白拉丁方表是

个方阵，例如：



其生成的拉丁方表格为 6×6 拉丁方表，如下图所示：

拉丁方设计数据转换表 (标准表->试验表)					

（iii）**双交叉设计：**该设计下的制表信息中，表数要求为 4，列数即每组剂量要求为 2，行数即每个剂量下的试验次数（或叫重复次数）只要大于等于 2 即可。

（iv）**合并计算：**在合并计算中涉及到中国药典中的合并计算和欧洲药典中的合并计算，二者的制表信息要求是不同的。

中国药典中的合并计算，其制表信息中，表数要求为 1，行数代表了来自于所有实验室的试验总次数，列数要求为 4；

欧洲药典中的合并计算，其制表信息中，表数要求为 1，行数代表了来自于所有实验室的是试验总次数，列数要求为 5。

基于以上制表信息，系统所生成的表格详见软件帮助中的合并计算实例（见第六章）。

（v）**直接检定：**直接检定模型表数应该至少为 2，行数代表了这个剂量下的试验次数（或叫重复次数），可以根据试验设计输入，列数只能为 1。

2.7 数据变换

根据试验需要选择合适的数据变换(此处不包括特定的数据变换计算方法,如 Probit、Logit 等)。

注意：数据结果的计算方式与不同实验室来源有关。在合并计算中，要求各实验室的计算转换方法要完全一致。通常来自于欧洲的数据是 ln 变换，来自于中国的数据是 lg 变换。各国药典规范不同，变换也有所不同。

若软件中提供的数据变换模型不合适，可选择“自定义”自行编写转换公式，在编写时注意运算符号和函数的格式：

① 基本法则:

加法(+),减法(-)，乘法(*)，除法(/)，次方(^)，求余数(%)，绝对值(abs())；

② 对数计算:

自然对数函数(ln())，以 10 为底的对数(lg())，以 10 为底的对数反函数(antilg())；

③ 三角函数及反函数计算:

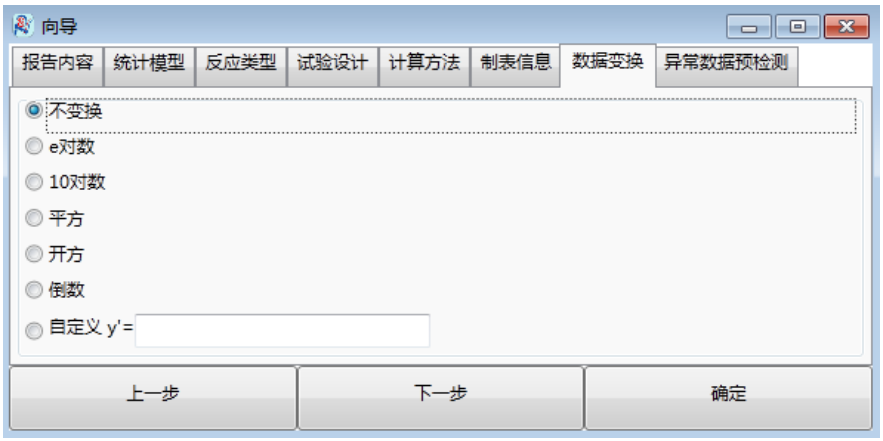
正弦(sin())，余弦(cos())，正切(tan())，余切(cot())；

反正弦(asin()),反余弦(acos()),反正切(atan()),反正切(acot())；

④ 特殊无理数：

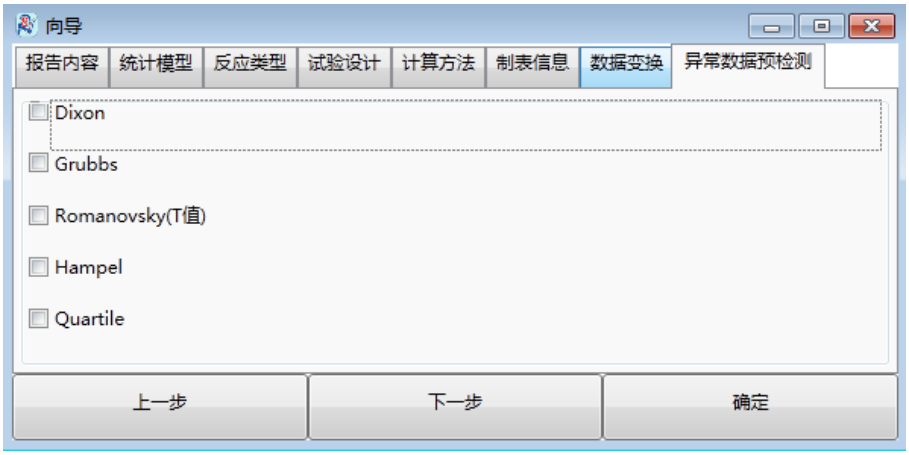
无理数 e^t(exp(t)),无理数 π (pi)。

注意:三角函数的变量单位是度数,不是弧度。



2.8 异常数据检测

该软件提供 5 种异常数据检测方法，在向导中可以选择一项或同时选择多项，向导完成编写之后，点击按钮，程序将根据向导中选择的异常数据检测方法对给出的试验数据进行异常值检测，具体结果会显示在主界面的下方。通过多种方法进行异常值判断，对数据进行预处理，为生物统计计算提供选择恰当异常值方法的依据。



在点击时，程序进行异常值检测并运行时，只能选择向导中指定的其中一种方法检测异常数据，如下图所示，程序根据这里选择的异常数据检测方法运行并最终给出运行结果。

注意：

① 在上述选择异常数据检测方法运行程序时，软件将对选择出来的异

常数据做统计上的数据替换，然后给出试验分析结果，但是在合并计算中的异常值计算，对于检验出来的异常数据，系统将直接剔除，不做异常值替换，试验次数也将对应的减少一次。

② 本版软件所采用的五种典型的异常值处理方法，包括了欧洲药典、美国药典、中国药典所涉及到的异常值检测方法，是得到国内外大量使用者认可的异常值处理方法。

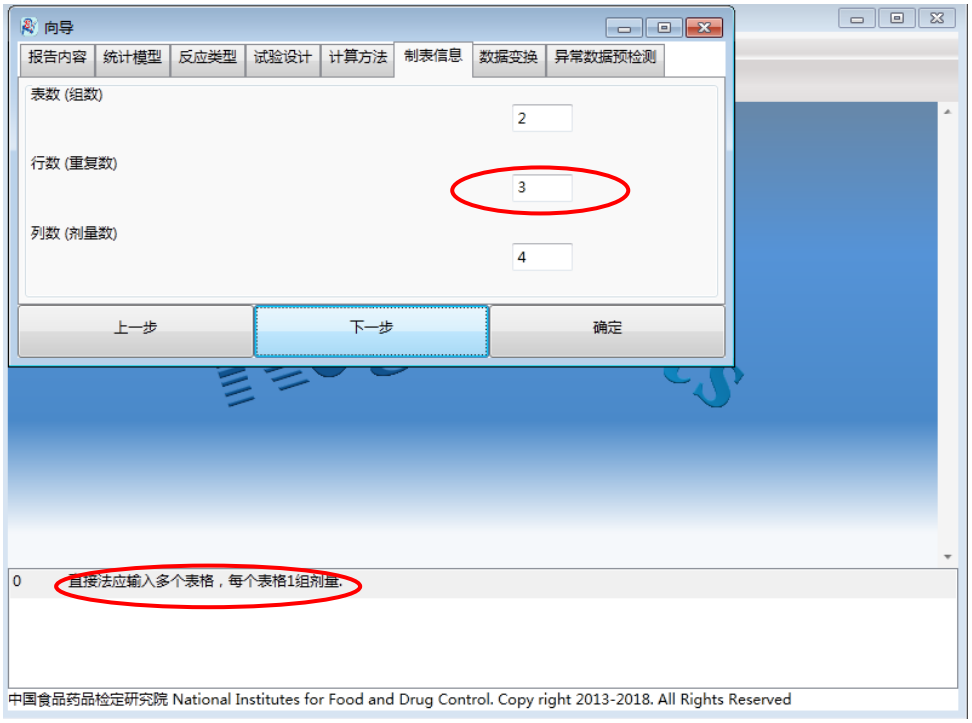
在以上 8 项向导信息完成之后，点击最后一步确定按钮，软件将根据向导要求生成一个包含设计信息和空白的数据表格，如下图所示：

第三章 实验数据的管理

在进行了程序向导编写之后，系统会生成空白表格，本章将介绍实验数据的管理。

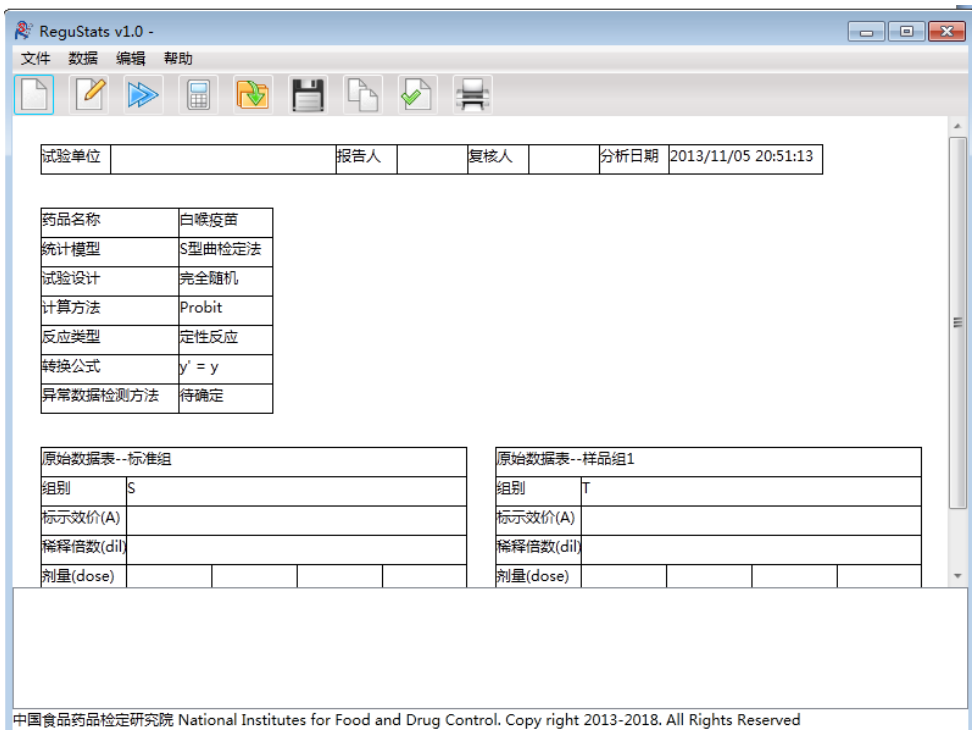
3.1 定性反应下的数据录入

在 S 型曲线的定性反应和半数量反应模型中，向导的反应类型一栏，应选择为“定性反应”，向导的制表信息这里，表数代表试验组数，列数代表每组试验所安排的剂量数，需要强调的是行数必须选择 2，否则系统会出现提示，无法进行下一步的编写，如下图所示：



下面以 S 型曲线白喉疫苗的效价测定为例，介绍定性数据的录入。

在 S 型曲线白喉疫苗的效价测定完成向导编写之后，系统会生成如下的空白表格：



① **软件版本及试验信息：**这里系统会自动给出该试验数据的检定分析时间，试验单位和报告人可以直接在空白栏里输入。相关版本信息在打印时才会出现。

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/10/27 20:46:28

② **向导信息：**该表格里自动生成了向导里所设定的试验信息，如下图所示。

药品名称	白喉疫苗
统计模型	S型曲检定法
试验设计	完全随机
计算方法	Probit
反应类型	定性反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

③ **空白数据表格：**该表格自动生成组别信息（S 组为标准组，T 组为样品组），操作者应根据具体试验输入：

- 标示效价 效价值的单位可以不输入，如果输入，则需要在数字和单位间有空格，假如效价的单位为 IU/mg，则在运行后的结果中效价估计会显示单位 IU/mg；
- 稀释倍数（数据值的单位可以不输入）表示药品配制时稀释的真实倍数

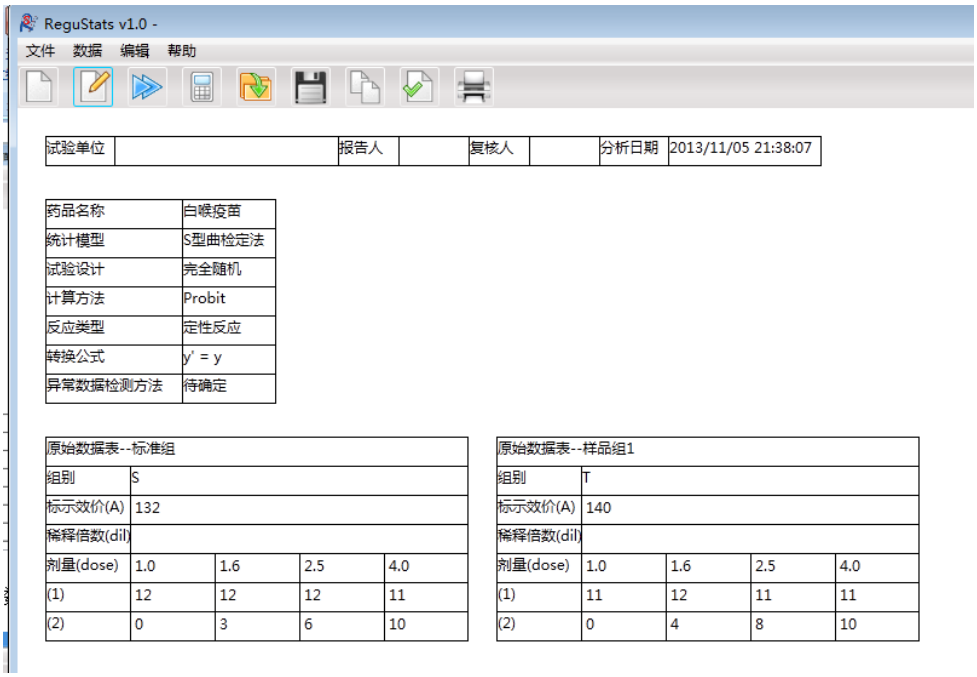
（支持公式计算），若稀释倍数处不填写则表示无稀释；

- 剂量后面的各个空白处输入试验的各剂量水平。与定量反应不同的是，剂量下面的第一行代表了在这个剂量下的试验个体总数，第二行代表了试验个体的有效个数。

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)				
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)				
(1)				
(2)				

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)				
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)				
(1)				
(2)				

按照上述要求输入完成后，结果如下所示：



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:38:07

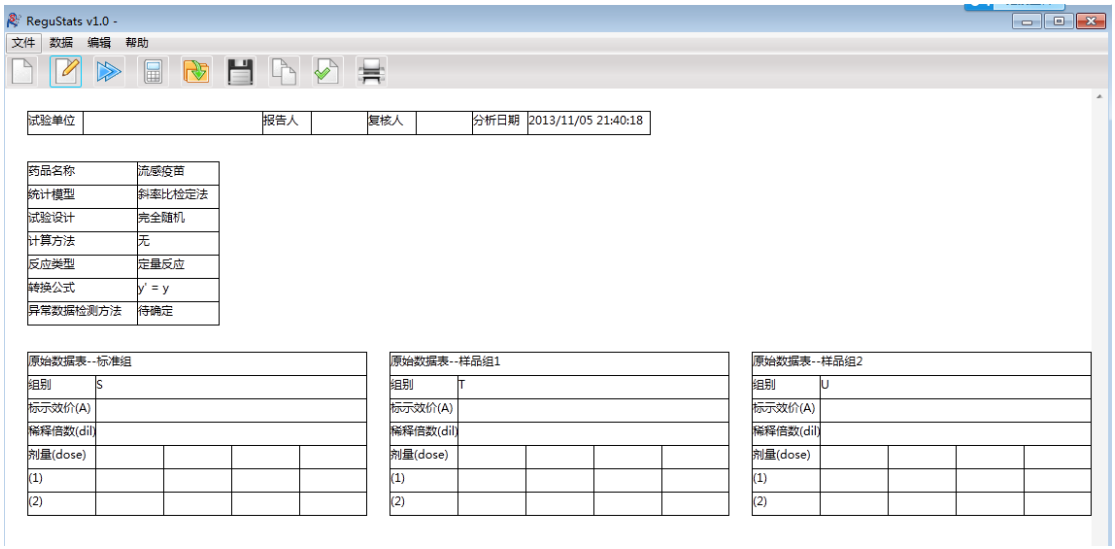
药品名称	白喉疫苗
统计模型	S型曲检定法
试验设计	完全随机
计算方法	Probit
反应类型	定性反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)	132			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	1.0	1.6	2.5	4.0
(1)	12	12	12	11
(2)	0	3	6	10

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)	140			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	1.0	1.6	2.5	4.0
(1)	11	12	11	11
(2)	0	4	8	10

3.2 定量反应下的数据录入

下面以一个统计分析模板程序生成的空白表格为例，进行程序数据录入的介绍。生成的空白表格如下所示：



该空白表格有 3 部分信息：

① **软件版本及试验信息：**这里系统会自动给出该试验数据的检定分析时间，试验单位和报告人可以直接在空白栏里输入。版本信息在打印时才出现。

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/10/27 21:01:43

② **向导信息：**该表格里自动生成了向导里所设定的试验信息，如下图所示。

药品名称	流感疫苗
统计模型	斜率比检定法
试验设计	完全随机
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

③ **空白数据表格：**该表格自动生成组别信息（S 组标准组，T 组样品组，U 组样品 2），操作者应根据具体试验输入：

- 标示效价：效价数据单位可以不输入，如果输入，则需要在数字和单位间有空格，假如效价的单位为 IU/mg，则在运行后的结果中效价估计会显示单位 IU/mg；
- 稀释倍数：数据单位可以不输入，若稀释倍数处不填写则表示无稀释；
- 剂量：其后面的各个空白处输入试验的各剂量水平；每个剂量下方输入

该剂量下每次试验的数据结果。

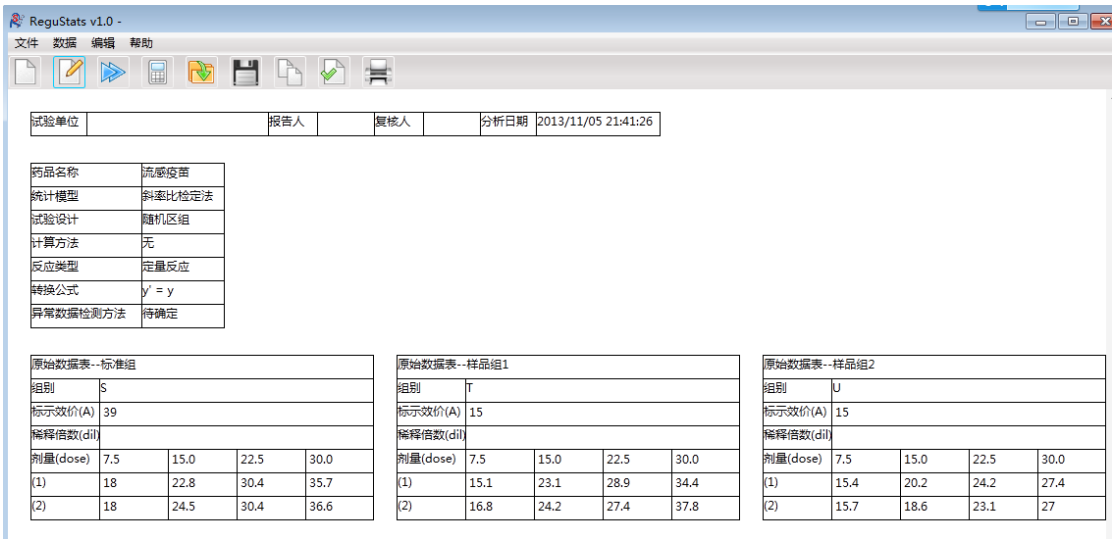
注意：在平行线统计模型中，各相邻剂量水平之间要求呈等比关系；而在斜率比统计模型中要求各相邻剂量间呈等差关系。

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)				
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)				
(1)				
(2)				

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)				
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)				
(1)				
(2)				

原始数据表--样品组2				
组别	U			
标示效价(A)				
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)				
(1)				
(2)				

按照上述要求输入完成后，结果如下所示：



数据输入完成后，点击 ，或点击菜单“文件”中的“保存”，将程序和数据保存。点击 ，或点击菜单“数据”中的“生物统计计算”，便可对上述程序进行生物检定统计计算。

④ 对于拉丁方设计的拉丁方表格：

在定量数据的拉丁方设计中，涉及到拉丁方表格的数据录入，拉丁方表格均为方阵，即行数与列数相等，在进行向导编写时，一定要保证表数×列数=行数，这样系统才能生成一个正确的空白拉丁方表格和试验数据表格。对于拉丁方表格数据的填写，根据试验设计自行填写，结果应满足拉丁方阵的要求（具体拉丁方阵设计见第五章）。

3.3 合并计算模型下的数据录入

① 中国药典中合并计算模型的数据录入

在向导创建一节介绍过，中国药典的合并计算模型向导编写时，制表信息表数一栏应填写 1（不能更改其他数值），行数为来自于不同试验室的试验总数，列数为 4（不能更改其他数值）。本节以肝素钠 5 次试验的效价测定为例介绍中国药典（**例 ChP2010 例 6 加权合并计算（结果均一）**）中合并计算数据的录入。在此例中，表数为 1，行数为 5，列数为 4，生成的数据表格录入完成后如下所示：

原始数据表		标示效价(A)		
序号	组别	效价	标准误	自由度
1	1	189.28	0.0289	24
2	2	180.13	0.0144	24
3	3	189.72	0.0105	24
4	3	185.27	0.00633	24
5	3	181.25	0.0278	24

其中，“序号”一列为系统自动生成的从小到大排序的数字编码，需要操作者填写的是“组别”、“效价”、“标准误”、“自由度”4 列。

“组别”的数字必须从小到大排列，“组别”信息代表了该数据来自于哪个实验室：数据 1 表示该试验组数据来自于第一个实验室，系统默认为 1a，数据 2 表示该试验组数据来自于第二个实验室，系统默认为 2a，三个 3 表示是来自于第三个实验室的 3 组数据，系统默认为 3a，3b，3c。

后面三列数据“效价”、“标准误”、“自由度”为该独立实验下已经运行得到的单次实验的效价统计结果、其标准误和标准误的自由度。这些结果来自于同种统计模型及实验设计的结果，不同情况下计算得到的结果不能进行合并计算，例如上述表格的 5 组数据是平行线模型的完全随机设计下得到的统计结果。

注意：不同实验室的数据，自由度是各自数据运行后的残差自由度（residual error），而非实验的总自由度。

② 欧洲药典中合并计算模型的数据录入

欧洲药典中合并计算的向导编写，制表信息表数一栏应填写 1（不能更改其他数值），行数为来自于不同试验室的试验总数，列数为 5（不能更改其他数值）。本节以肝素钠 6 次试验的效价测定为例介绍欧洲药典中合并计算数据的录

入（**例 EP7.0 Examples 6.4 合并计算(A.1.15)**）。在此例中，表数为 1，行数为 6，列数为 5，生成的数据表格录入完成后如下所示：

原始数据表		标示效价(A)			
序号	组别	下限	效价	上限	自由度
1	1	17755	18367	19002	20
2	1	17415	18003	18610	20
3	2	17319	18064	18838	20
4	2	17253	17832	18429	20
5	2	17959	18635	19339	20
6	3	17722	18269	18834	20

与中国药典中合并计算表格不同的是，这里将中国药典中的效价点估计换成了标示效价置信区间的上下限的信息录入，而删除了标准误的输入；所以表格比中国药典合并计算的表格多了一列。具体各列数据的含义和录入同上述介绍的中国药典的合并计算表格数据录入。

3.4 直接检定模型数据的录入

直接检定法要求数据表格中列数只能为 1，表数代表试验的组数（制品数，一般一个标准品和至少一个样品），行数代表该剂量下的试验次数（或叫重复次数）。对于直接检定模型的数据表格，直接在空白表格中输入标示效价、稀释倍数、剂量和该剂量下的试验数据即可，具体操作同前面的操作。

3.5 效价（A）、稀释倍数（dil）和剂量（dose）的录入

本软件在输入数据时可以带着运算符号一起输入，程序自动计算，例如输入数字 30 时也可以输入 60/2，效果是相同的。

空白表格中的效价输入为标示效价，可以带单位（数字和单位间必须有一个空格）也可以不带单位，例如：

原始数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	15 iu		
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)			
(1)			
(2)			

原始数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	15		
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)			
(1)			

关于稀释倍数的填写，若药品无稀释，则稀释倍数不能填写；稀释倍数一栏

可以填写具体的数字例如 10/30 iu/ml(数字和单位之间有一空格)，表明 10 iu 效价的药品稀释到 30ml 溶液里面。

注意：

1、对于稀释倍数的填写，必须保证程序中所有的表格都填写或都不填写，若只填写个别表格的稀释倍数，则填写无效。

2、关于剂量的填写，若无稀释的药品，则剂量表示的是原药品的效价单位；若药品经过稀释，则剂量表示的是稀释后的单位或者为稀释后溶液的所取体积份数。

例如 在某检定统计中所录入数据如下图，则输入的剂量值 7.5，15.0，22.5，30.0 表示的稀释后的溶液 7.5 ml，15.0 ml，22.5 ml，30.0 ml。

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)	39 IU/mg			
稀释倍数(dil)	20 mg/ml			
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	18	22.8	30.4	35.7
(2)	18	24.5	30.4	36.6

若在某检定统计中所录入数据如下图所示，则输入的剂量值 7.5，15.0，22.5，30.0 分别表示的是 17.5 IU，15.0 IU，22.5 IU，30.0 IU。

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)	15 IU/mg			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	15.1	23.1	28.9	34.4
(2)	16.8	24.2	27.4	37.8

3.6 数据的录入方式

ReguStats 软件中数据的录入可以按照要求根据试验结果直接键入具体的数据，也可以根据第一章中复制表粘贴表的使用方法，将 Excel、Word 文档或

ReguStats 程序中整个表格的数据进行复制粘贴，具体操作方法见软件菜单介绍一节（见第一章）。

第四章 异常数据检测方法介绍

药品检验过程中时常会出现异常值，拒绝或者保留一个明显的异常值往往会导致数据处理困难、歪曲事实、产生严重偏倚。合理发现并正确处理异常数据，对保证药品检验结论的科学性、严谨性，从而保障人们用药安全有效有着极其重要的意义。

本章将对软件中涉及到的Dixon,Grubb's,Romanovsky,Hampel,Quartile五种异常数据处理方法及应用背景做简单介绍，本软件所涉及的异常值检验用到的显著性水平$\alpha = 0.05$。当然也有一些学者看来，只有当$\alpha = 0.01$或更低时，才可对该异常值进行处理。

① **Dixon 检验（狄克逊检验）**：Dixon 检验适用于$3 < n \le 10$的数据样本量，对样本数据的分布没有任何要求，该检验方法不必计算样本标准偏差，对数据中只存在一个异常值时，效果良好；有多个异常值且相邻的相差较小时，灵敏度降低或失效。

② **Grubb's 检验（格拉布斯检验）**：Grubb's 检验适用于$n > 6$的数据样本量，该方法要求样本数据呈现正态或近似正态分布，异常值检验效率较高，但是对于n较小的样本容量数据不适合，多个异常值接近时，灵敏度降低或方法失效。

③ **Romanovsky 检验（罗曼诺夫检验）**：Romanovsky 检验适用于$n < 20$的数据样本量，该方法要求样本数据呈现正态或近似正态分布，异常值检验效率较高，但是随着样本容量n的增加灵敏度降低。

④ **Hampel 检验（汉佩尔检验）**：Hampel 检验适用于$n > 3$的数据样本量并且要求样本数据呈现正态或近似正态分布，该方法简单无需查表，检验效率最高，但是对异常值不敏感，判断保守。

⑤ **Quartile 检验（四分位数法检验）**：Quartile 检验适用于$n > 4$的数据样本量，对样本数据的分布无任何要求，该方法简单无需查表，检验效率可控制，要求样本量比较大，一般情况下应该$n > 10$。

以上是从统计学角度介绍这五种异常数据检测方法的应用背景，在使用ReguStats 软件进行生物检定统计分析时，可以根据此应用背景并结合各异常值

检验方法所得的检测结果，综合分析选择一个恰当地异常值检验方法，增加统计分析结论的科学性、可靠性。当进行异常值处理时，无经验的使用者最好能根据已有的模板程序进行选择，或咨询有关专业统计人员，也可参考相关文献。

[1] 项荣武等，药品质量控制中常用异常值判别方法辨析，药物分析杂志，2013, 33(11)。

第五章　试验计与计算方法的选择

生物检定的实验设计也与其他实验设计一样，目的是用最少的代价以获得最多的信息。合理的实验设计应预先考虑影响本实验的因素，并设法消除或减少这些因素的影响。实验设计同时也必须考虑如何简化计算，使不熟练于生物统计的药理工作者便于接受和使用，而不为繁琐的计算而苦恼。

故在生物统计中实验设计方案与计算方法的选择至关重要，本章分别就生物检定过程中不同的实验设计和计算方法的选择与应用进行了介绍。

5.1 生物检定常用的实验设计

（1）完全随机设计

完全随机设计（completely randomized design）是将样本中全部受试对象随机地分配到各个处理组中，分别接受不同的处理，然后对其效应进行比较；或者分别从不同总体中随机抽样进行对比观察。这种设计只涉及到一个处理因素(但可以是多个水平) ，故亦称单因素设计。

完全随机设计的实质是将供试动物随机分组。随机分组的方法有抽签法和用随机数字表法，以用随机数字表法为好，因为随机数字表上所有的数字都是按随机抽样原理编制的，表中任何一个数字出现在任何一个位置都是完全随机的。除从随机数字表可查得随机数字外，有些电脑及计算器均有此功能，用起来则更方便。

完全随机设计的使用特点

① 如果试验单位的总数出现是合理的且均一的，并且不同分组间的响应值差异较小，应当对不同处理的试验单位随机分配。这种设计保证每只供试验动物都有相同机会接受任何一种处理，而不受试验人员主观倾向的影响。

② 当试验条件特别是试验动物的初始条件比较一致时，可采用完全随机设计。这种设计应用了重复和随机化两个原则，因此能使试验结果受非处理因素的影响基本一致，真实反映出试验的处理效应。

③ 本设计类型的试验结果只能分离不同剂量（剂间）所致的变异，如绒促性素的生物检定。

④ 随机数的位数不应小于样本含量的位数。实验需要例数一般尽量相等，因为相等时检验效率高。

完全随机设计的优缺点

完全随机设计是一种最简单的设计方法，主要优缺点如下：

完全随机设计的主要优点

① 设计容易、处理数与重复数都不受限制，适用于试验条件、环境、试验动物差异较小的试验。

② 统计分析简单、无论所获得的试验资料各处理重复数相同与否，都可采用 t 检验或方差分析法进行统计分析。

完全随机设计的主要缺点

① 由于未应用试验设计三原则中的局部控制原则，非试验因素的影响被归入试验误差，试验误差较大，试验的精确性较低。

② 在试验条件、环境、试验动物差异较大时，不宜采用此种设计方法。

完全随机设计方法应用实例

例 将 18 名乙脑患者分为甲、乙、丙三组，分别给予 A、B、C 三种退烧药物治疗，比较退热时间。应如何设计完全随机分组？

① 先将全部患者按某种标志编号，本例按就诊顺序编号。

② 查随机数字表：从随机数字表任意指定某行某列某一数开始，向任意方向查均可。查得 18 个两位数的随机数抄于患者号下。

③ 将随机数从小到大排列后得序号 R，并规定 R 是1～6者分入甲组， R 是7～12 者分入乙组，R 是13～18 者分入丙组。

患者编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
随机数字	94	94	88	46	56	00	04	00	26	56	48	91	90	88	26	53	12	25
以 3 除后之余数	1	1	1	1	2	0	1	0	2	2	0	1	0	1	2	2	0	1
组　别	甲	甲	甲	甲	乙	丙	甲	丙	乙	乙	丙	甲	丙	甲	乙	乙	丙	甲
调整组别												丙		乙				

一律以 3（处理数）除各随机数字，若余数为 1，即将该患者归于甲组；余数为 2，归入乙组；商为 0 或余数为 0，归入丙组。结果归入甲组者 8 人，乙组 5 人，丙组 5 人。各组人数不等，应将甲组多余的 2 人调整 1 人给乙组、1 人给丙组。调整甲组的 2 人仍然采用随机的方法。从随机数字 25 后面接下去抄二个数 63、62，然后分别以 8（甲组原分配 8 人）、7 除之（注意：若甲组原分配有 9 人，须将多余的 3 人调整给另外两组，则抄下三个随机数，分别以 9、8、7 除之），得第一个余数为 7，第二个余数为 6，则把原分配在甲组的 8 人中第 7 人即 14 号患者改为乙组；把甲组中余下的 7 人中的第 6 人即 12 号患者改为丙组。这样各组的人数就相等了。调整后各组的人编号如下：

组　别	患　者　编　号					
甲　组	1	2	3	4	7	18
乙　组	5	9	10	14	15	16
丙　组	6	8	11	12	13	17

（2）随机区组设计

在对称设计的基础上，完全随机设计的生物检定最为常用，但是这种设计有时不满足有足够精密度的需要。为了要使剂量间比较能在同窝，同小碟，同部位或同一动物内进行，就需要用随机区组设计。

随机区组设计（Randomized block design），这种设计的特点是将动物或试验对象分成区组，一个区组可以是一窝动物、一只双碟或一次实验。在剂量组建的各行间加以区组（如窝间、碟间、实验次序间）的因级限制。随机区组设计要求

每一区组的容量必须和剂量组数相同，这样可以使每窝动物或每一只双碟都能接受到各个不同的剂量。因此随机区组设计除了从总变异中分离剂间变异之外，还可以分离区组间变异，减少实验误差。如抗生素杯碟法效价测定。

用于随机区组设计的多个样本均数比较，其统计推断是推断各样本所代表的各总体均数是否相等。随机区组设计考虑了个体差异的影响，可分析处理因素和个体差异对实验效应的影响，所以又称两因素实验设计，比完全随机设计的检验效率高。该设计是将受试对象先按配比条件配成配伍组，每个配伍组有三个或三个以上受试对象，再按随机化原则分别将各配伍组中的受试对象分配到各个处理组。随机区组设计使用区组方法减小误差变异，即用区组方法分离出由无关变量引起的变异，使它不出现在处理效应和误差变异中。

随机区组设计使用特点

① 该设计中对可鉴别的差异进行分离是可行的，比如实验动物组间的敏感差异及微生物扩散含量测定中培养皿的差异。该设计要求每次处理在每个区组上应用的次数相同，只有在区组足够大以容纳所有处理时才是合适的。

② 各区组例数相等，各处理组例数相等，且每区组例数取决于处理组数多少。受试对象少时，不宜设处理组数太多。因处理组越多，需要的相同相近的受试对象就越多，也就越不容易配伍。

③ 处理组间非处理因素较均衡，减少了实验误差，检验效率高。采用配伍设计时，最后应用计量指标，因为计量指标效率高。

④ 对每区组、每处理组的受试对象观察分析时，其对应关系不可错乱、缺失。能同时分析处理组间有无差别，各配伍组间有无差别，回答问题比单因素设计多一个。

随机区组设计的优缺点

随机区组设计的优点

① 每个区组内的 k 个受试对象有较好的同质性，因此组间均衡性也较好。

② 比完全随机设计减少了误差，因而更容易察觉处理组间的差别，提高了实验效率。

随机区组设计的缺点

要求区组内受试对象数与处理数相等，实验结果中若有数据缺失，统计分析比较麻烦；

随机区组设计方法应用实例

例 人观察不同剂量的雌激素对未成年大白鼠子宫重量的影响，并且观察不同年龄的大白鼠对雌激素的反应有无差别,现有 20 只大白鼠，设计分为 5 个区组，即用 5 窝不同种属的大白鼠，每窝 4 只随机分为四组（四个处理组），各接受不同剂量的雌激素处理。如何设计分组？

随机区组设计步骤：

① 按实验对象的主要非处理条件配区组，本例按同窝、同性别、相近的每 4 只为一区组，共配成 5 个区组。

② 窝别的鼠重编号，规定 1～4 号为一区组，5～8 号为二区组，……，17～20 号为五区组。

③ 随机数字表，（从任一行、任一列、任一数查用均可）本例从随机数字表中的一行一列往下查 20 个数抄入动物号下（两位一个数）。

④ 同一区组的前三个随机数字依次以 4、3、2 除之，写出余数。

⑤ 据余数确定该动物归何组。如规定除以 4 的余数：数为 1 则分入 A 组，余数为 2 则分入 B 组，余数为 3 则分入 C 组，余数为 0 则分入剩下的最后一组；其他除数所得余数规定同上进行类推。

本例查到 20 个随机数，分成五组得到下表（括号内数字为小白鼠标号）。

试验组＼区组	第一区组	第二区组	第三区组	第四区组	第区五组
1	47（1）	11（5）	76（9）	56（13）	95（17）
2	75（2）	70（6）	86（10）	45（14）	91（18）
3	57（3）	68（7）	81（11）	39（15）	75（19）
4	64（4）	50（8）	49（12）	14（16）	58（20）

每个区组数依次被 4、3、2 除，计算余数。

试验组＼区组	第一区组	第二区组	第三区组	第四区组	第区五组
1	3（1）	3（5）	0（9）	0（13）	3（17）
2	0（2）	1（6）	2（10）	0（14）	1（18）
3	1（3）	0（7）	1（11）	1（15）	1（19）
4	87（4）	13（8）	39（12）	94（16）	15（20）

根据余数表，可将小白鼠放到对应试验组。

试验组＼区组	第一区组	第二区组	第三区组	第四区组	第区五组
1	（3）	（6）	（11）	（15）	（18）
2	（4）	（8）	（10）	（16）	（19）
3	（1）	（5）	（12）	（14）	（17）
4	（2）	（7）	（9）	（13）	（20）

（3）拉丁方设计

拉丁方设计（Latin square design）是指由 r 个拉丁字母排成 r 行 r 列的方阵，使每行每列中的每个字母都只能出现一次，这样的方阵叫 r 阶拉丁方。如 4×4 拉丁方表：

$$\begin{bmatrix} A & B & C & D \\ B & C & D & A \\ C & D & A & B \\ D & A & B & C \end{bmatrix}$$

分别按拉丁方的字母、行和列安排处理因素和影响因素的试验设计为拉丁方设计。第一行与第一列的拉丁字母按自然顺序排列的拉丁方，叫标准型拉丁方。4×4 阶标准型拉丁方有 4 种，5×5 阶标准型拉丁方有 56 种。若变换标准型的行或列，可得到更多种的拉丁方。在进行拉丁方设计时，可从上述多种拉丁方中随机选择一种；或选择一种标准型，随机改变其行列顺序后再使用。

拉丁方设计是从横行和直列两个方向进行双重局部控制，使得横行和直列两向皆成单位组，是比随机单位组设计多一个单位组的设计。在拉丁方设计中，每

一行或每一列都成为一个完全单位组，而每一处理在每一行或每一列都只出现一次，也就是说，在拉丁方设计中，试验处理数=横行单位组数=直列单位组数=试验处理的重复数。在对拉丁方设计试验结果进行统计分析时，由于能将横行、直列二个单位组间的变异从试验误差中分离出来，因而拉丁方设计的试验误差比随机单位组设计小，试验精确性比随机单位组设计高。

拉丁方设计使用特点

① 这个设计适用于响应值受两个因素差异的影响，每个因素都可以假定 k 个水平及位置。如果要控制来自两个方面的系统误差，且试验动物的数量又较少，则常采用拉丁方设计

②若是三个因素的实验，则三个因素的水平数相等（若三因素的水平数略有不同，应以主要处理因素的水平数为主，其它两因素的水平数可进行适当调整）。

③各因素间是相互独立的，搜集整理均无交互作用。

④各行、列、字母所得实验数据的方差齐性。

拉丁方设计优缺点

拉丁方设计优点

① 拉丁方的行与列皆为配伍组，可用较少的重复次数获得较多的信息。

②双向误差控制，使观察单位更加区组化和均衡化，进一步减少实验误差，比配伍组设计优越。

③精确性高，拉丁方设计在不增加试验单位的情况下，比随机区组设计多设置了一个单位组因素，能将横行和直列两个单位组间的变异从试验误差中分离出来，因而试验误差比随机区组设计小，试验的精确性比随机区组设计高。

拉丁方设计缺点

① 要求各因素的水平数相等且无交互作用。当各因素的水平数不等时，可以通过调整次要因素的水平数以满足设计的要求，但有时无法达到；况且因素间可能存在交互作用，故在实际工作中有一定的局限性；

②若处理数少，则重复数也少，估计试验误差的自由度就小，影响检验的灵敏度；若处理数多，则重复数也多，横行、直列单位组数也多，导致试验工作量大，且同一单位组内试验动物的初始条件亦难控制一致。因此，拉丁方设计一般用于 5-10 个处理的试验。

拉丁方设计方法应用实例

例 研究 5 种不同温度对蛋鸡产蛋量的影响，将 5 栋鸡舍的温度设为 A、B、C、D、E，把各栋鸡舍的鸡群的产蛋期分为 5 期，由于各鸡群和产蛋期的不同对产蛋量有较大的影响，因此采用拉丁方设计，把鸡群和产蛋期作为单位组设置，以便控制这两个方面的系统误差。

拉丁方设计步骤如下：

① 选择拉丁方时应根据试验的处理数和横行、直列单位组数先确定采用几阶拉丁方，再选择标准型拉丁方或非标准型拉丁方。此例因试验处理因素为温度，处理数为 5；将鸡群作为直列单位组因素，直列单位组数为 5；将产蛋期作为横行单位组因素，横行单位组数亦为 5，即试验处理数、直列单位组数、横行单位组数均为 5，则应选取 5×5 阶拉丁方。本例选取下面列出的 5 × 5 标准型拉丁方，即：

$$\begin{bmatrix} A & B & C & D & E \\ B & A & D & E & C \\ C & E & B & A & D \\ D & C & E & B & A \\ E & D & A & C & B \end{bmatrix}$$

②随机排列 在选定拉丁方之后，如是非标准型时，则可直接按拉丁方中的字母安排试验方案。若是标准型拉丁方，还应按下列要求对横行、直列和试验处理的顺序进行随机排列。

3×3 标准型拉丁方：直列随机排列，再将第二和第三横行随机排列。

4×4 标准型拉丁方：随机选择 4 个标准型拉丁方中的一个，然后再将横行、直列及处理都随机排列。

下面对选定的 5×5 标准型拉丁方进行随机排列。先从随机数字表中抄录 3 个五位数字为：13542，41523，34521。然后将上面选定的 5×5 拉丁方的直列、横行及处理按这 3 个五位数的顺序重新随机排列。

1、直列随机　将拉丁方的各直列顺序按 13542 顺序重排。

2、横行随机　再将直列重排后的拉丁方的各横行按 41523 顺序重排，如下表所示。

选择拉丁方					直列随机						横行随机					
1	2	3	4	5		1	3	5	4	2						
A	*B*	*C*	*D*	*E*	1	*A*	*C*	*E*	*D*	*B*	4	*D*	*E*	*A*	*B*	*C*
B	*A*	*D*	*E*	*C*	2	*B*	*D*	*C*	*E*	*A*	1	*A*	*C*	*E*	*D*	*B*
C	*E*	*B*	*A*	*D*	3	*C*	*B*	*D*	*A*	*E*	5	*E*	*A*	*B*	*C*	*D*
D	*C*	*E*	*B*	*A*	4	*D*	*E*	*A*	*B*	*C*	2	*B*	*D*	*C*	*E*	*A*
E	*D*	*A*	*C*	*B*	5	*E*	*A*	*B*	*C*	*D*	3	*C*	*B*	*D*	*A*	*E*

3、把 5 种不同温度按第三个 5 位数 34521 顺序排列　即：*A*=3，*B*=4，*C*=5，*D*=2，*E*=1，也就是说，在拉丁方中的 *A* 表示第 3 种温度，*B* 表示第 4 种温度等，依次类推。从而得出 5×5 拉丁方设计，如下表所示。

5 种不同温度对鸡产蛋量影响的拉丁方设计

产蛋期	鸡群				
	一	二	三	四	五
Ⅰ	D（2）	E（1）	A（3）	B（4）	C（5）
Ⅱ	A（3）	C（5）	E（1）	D（2）	B（4）
Ⅲ	E（1）	A（3）	B（4）	C（5）	D（2）
Ⅳ	B（4）	D（2）	C（5）	E（1）	A（3）
Ⅴ	C（5）	B（4）	D（2）	A（3）	E（1）

注：括号内的数字表示温度的编号

由上表可以看出，第一鸡群在第Ⅰ个产蛋期用第 2 种温度，第二鸡群在第Ⅰ个产蛋期用第 1 种温度，等等。试验应严格按设计实施。

（4）双交叉设计

交叉设计组合了拉丁方属性和重复测量设计的试验设计。为了克服个体差异对试验结果的影响，通常是让同一受试者，于不同时期服用受试制剂和标准参比制剂。对于两个制剂，即一个为受试制剂 T，另一为标准参比制剂 R，通常采用双周期的交叉试验设计。

设有两种处理A和B，则将受试对象随机分为两组，第一组在第一时期接受

A处理，在第二时期接受B处理，实验顺序为AB；第二组则相反，在第一时期接受B处理，在第二时期接受A处理，实验顺序为BA。这是两种处理在两个不同时期的交叉试验，称为2×2交叉试验。

双交叉设计将动物分成4组，对各组中的每一只动物都标上识别好。每只动物都按给药次序表进行两次实验。

双交叉设计两次实验的给药次序表

	第一组	第二组	第三组	第四组
第一次实验	d_{s_1}	d_{S_2}	d_{T_1}	d_{T_2}
第二次实验	d_{T_2}	d_{T_1}	d_{S_2}	d_{S_1}

双交叉设计使用特点

① 同一动物可以分两次进行实验者适合用交叉设计。这种设计的目的是消除单位之间差异的影响，平衡两种情况下响应值水平差异的影响以提高精密度。

② 试验材料为异质，每个试验单位分不同时期重复使用，参与处理要随机安排于不同试验时期。

③ 每个试验阶段的用药对后一阶段的延滞作用称为延滞效应。采用交叉设计时应避免延滞效应，资料分析时需检测是否有延滞效应存在。因此每个阶段后需安排足够长的洗脱期或有效的洗脱手段，以消除其延滞效应。在交叉设计中应尽量避免受试者的失访。

双交叉设计优缺点

交叉试验设计的优点

① 在同一个病人内部进行几种处理方法的比较，可减少个体差异影响，扣除试验次序的影响，使用的实验对象数较少。当仅有两个处理，两个时期时就是两次重复使用同一实验对象，它能将处理间的差异从试验次序的差异中分离出来，因而有较高的效率。

②当试验材料变异大且数量有限，增加重复个数，减少试验的误差，提高了试验的可靠性。

交叉试验设计的缺点

① 由于每个试验对象需接受两种以上处理，因而试验的周期延长了。

② 有些试验处理的剩余作用会影响到下一个处理，因而当处理的剩余作用项显著时，不得不丢弃第二阶段的处理结果，仅用第一阶段的处理结果来做统计判断。

③ 不同的交叉设计类型具有不同的混迭，所具有的性质也不同。

双交叉设计方法应用举例

例 在家兔皮下注射胰岛素的试验测定中，分别给予标准组（S_1组和S_2组）剂量为 1unit/ml 和 2unit/ml 的药品。试验组（T_1组和T_2组）根据假定效价 40unit/ml 给予未知制剂的等同剂量。根据下面双交叉表给予 16 只家兔进行分组设计。

	第一组	第二组	第三组	第四组
第一次实验	d_{s_1}	d_{S_2}	d_{T_1}	d_{T_2}
第二次实验	d_{T_2}	d_{T_1}	d_{S_2}	d_{S_1}

双交叉设计步骤：

① 与完全随机设计相同，把 16 只家兔分成四组，如下表所示。

患者编号	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**
随机数字	**94**	**94**	**88**	**46**	**56**	**00**	**04**	**00**	**26**	**56**	**48**	**91**	**90**	**88**	**26**	**53**
以 3 除后之余数	**2**	**2**	**0**	**2**	**0**	**0**	**0**	**0**	**2**	**0**	**0**	**3**	**2**	**0**	**2**	**1**
组　别	丙	丙	甲	丙	甲	甲	甲	甲	丙	甲	甲	丁	丙	甲	丙	乙
调整组别		丁			乙	乙		丁	丁					乙		

一律以 4（处理数）除各随机数字，若商为 0 或余数为 0，即将该患者归于甲组；余数为 1，归入乙组；余数为 2，归入丙组；余数为 3，归入丁组。结果归入甲组者 8 只，乙组 1 只，丙组 6 只，丁组 1 只。各组人数不等，应将甲组多余的 4 只调整 4 只给乙组或丁组。调整甲组的 4 人仍然采用随机的方法。从随机数字 25 后面接下去抄四个数 64，37，28，27，然后分别以 8（甲组原分配 8 只）、7、6、5 除之，得第一个余数为 0，第二个余数为 2，第三个余数为 4，第四个余

数为 2，则把原分配在甲组的 8 只中第 8 只即 14 号、甲组剩余 7 只中第 2 只即 5 号、甲组剩余 6 只中第 4 只即 8 号、甲组剩余 5 只中第 2 只即 6 号取出，等待重新分配，用同样的方法，从丙组中取出 2 只家兔，这六只家兔进行重新随机分配到乙组 3 只、丁组 3 只。调整后各组的人编号如下：

组别	家兔编号			
甲组	3	7	10	11
乙组	5	6	14	16
丙组	1	4	13	15
丁组	2	8	9	12

按照双交叉表进行试验

第一次试验：

组别	家兔编号			
甲组（S_1）	3	7	10	11
乙组（S_2）	5	6	14	16
丙组（T_1）	1	4	13	15
丁组（T_2）	2	8	9	12

第二次试验：

组别	家兔编号			
甲组（T_2）	3	7	10	11
乙组（T_1）	5	6	14	16
丙组（S_2）	1	4	13	15
丁组（S_1）	2	8	9	12

5.2 计算方法的选择

在生物检定中，讨论剂量与反应的关系，基本内容就是如何找出剂量与反应关系的规律性。并用适当的坐标转换方法来解决曲线直化问题，以便用最简单

的数学方法加以描述。如某些发挥作用较快的药物，将药液由静脉缓慢注入动物体内后，或定时注剂量，测定刚好是动物出现某种反应的剂量，即最小有效量。由于生物个体存在差异，使得最小剂量的值不同，理论上，如果将每一剂量刚好出现反应时的动物数化为全体供试动物数的百分率，其对数最小剂量的分布近似正态分布。如果动物分组是一个随机的过程，如果将剂量转换为其对数，则剂量与反应率之间的关系在理论上就变成了 S 形曲线，这种类型的质反应在生物检定中最为常见，目前，在生物检定用用于解决这类问题的模型主要有一下几种，Probit 模型，Logit 模型，Gompit 模型和 Angle 模型。

（1）Probit 模型

Probit 模型是一种广义的线性模型。数据需服从正态分布。最简单的 Probit 模型就是指被解释变量 Y 是一个 0，1 变量，事件发生地概率是依赖于解释变量，即 $p(Y=1)=f(X)$，也就是说，$Y=1$的概率是一个关于 X 的函数，其中 $f(X)$ 服从标准正态分布。任何正态分布 $N(\mu,\sigma^2)$ 的随机变量 X 都可以经过变换 $Z=\frac{x-\mu}{\sigma}$，变换成关于 Z 的标准正态分布 $N(0,1)$。这个新的变量 Z 称为正态当量离差（Normal Equicalent Deviate，NED）

根据 S 形曲线上的反应率相当于正态曲线下一定区间面积的原理，由于标准化的正态分布曲线下的任意区间的面积（自 $-\infty$ 开始计算起）都有对应的 NED。为了方面计算，应该消除负值，所以将 NED 一律加 5，因此 Probit 的概率转换的转换公式为

$$Y=5+\frac{x-\mu}{\sigma} \qquad (1)$$

Probit 模型的对数剂量与反应百分率的曲线关系如下图所示：

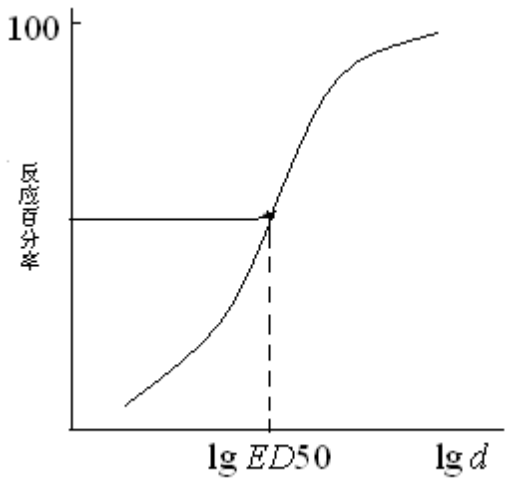


图 Probit 模型对数剂量与反应率关系

在 X 和反应百分率的 S 曲线关系上可以看到，曲线上每个反应率的权重不同，靠近 50%反应率处各反应点的斜率大，对决定曲线的位置起的作用大，而靠近 0%或 100%的反应点，其作用性要小的多。从图像中可以看到，曲线斜率先是逐渐增大，在 ED50 处斜率达到最大值，也即是在此处反应率增长速度达到最大值，过了这个点，曲线斜率开始减小。设 x_i 为某一反应率的对数剂量，则 x_i 可等于也可大于这部分的正性反应的对数最小有效量，因此 S 形曲线上的反应率即相当于正态曲线下 x_i 左侧正性反应动物的累积频率，或者相当于正态曲线下 x_i 左侧的面积，如上图所示。

从图中可以看到，当反应率为 0%或 100%，相应的概率单位在理论上为 $-\infty$ 或 $+\infty$，无法用于计算，故此时在应用 Probit 模型计算时，一般以实验数据不包括反应率 0%或 100%为好。

Probit 模型使用特点

① 剂量最好按等比计算排列。S 和 T 相邻高低剂量的比值 r 应尽可能相等。

② S 和 T 的剂量组数没有个数及相等限制，一般情况下要求 6 个以上剂量，10 个为佳。

③ 各剂量组的动物数相等或相差很少。

④ 高低剂量间正性反应率比较对称、S 和 T 个相应剂量间的反应率要接近。

⑤ 实验结果最好不易出现 0%或 100%的正性反应率。当出现了 0%或 100%，可以用公式 1（进行）处理。

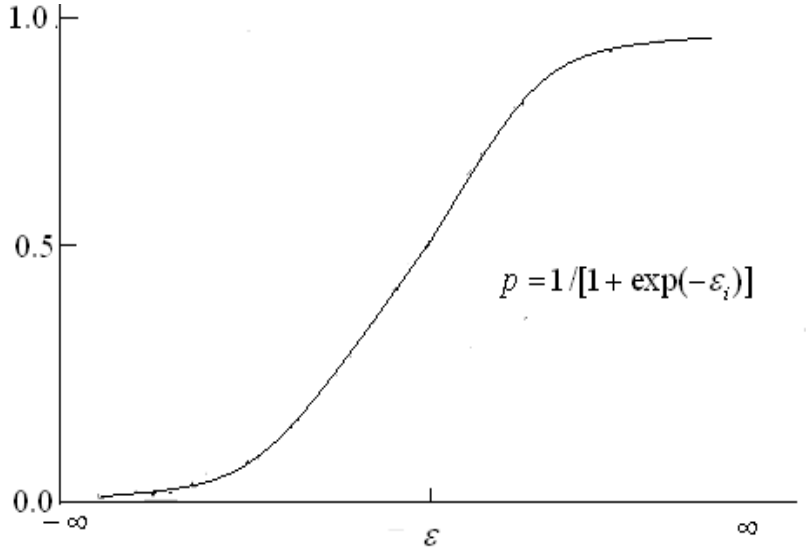
⑥ 如果高剂量或者低剂量相邻两组出现了 0%或 100%的反应率，应将末端

的那组舍弃。

如果实验结果都符合这些条件，则利用 Probit 模型的计算效价。

（2）Logit 模型

Logit 模型不仅在（$-\infty$，$+\infty$）内取值，而且往往和因变量呈线性相关关系。将 Logit 作为因变量和自变量进行回归，便可得 Logit 模型，Logit 模型来源于近似 S 形的 logistic 曲线，logistic 曲线 $p=\frac{1}{1+e^{-\varepsilon_i}}$，其中 ε_i 为有着标准正态分布或 logistic 分布的误差项，其图形如下



从图形中可以看到当 $-\varepsilon_i$ 趋于 $-\infty$ 时，曲线的概率为 0。当 $-\varepsilon_i$ 趋于 $+\infty$ 时，曲线的概率为 1，也即是无论怎样取值，logistic 函数曲线的取值范围都在 0 和 1 之间，这就保证了由 Logit 模型估计的概率只能在 0 和 1 之间，不能超出这个范围。如图所示，当将 Y 值从 $-\infty$ 开始向右平移时，发现对应曲线的函数值先是很缓慢的增加，然后转为迅速增加，之后增加的速度又开始减缓，最后当 Y 值趋向于 $+\infty$ 时，函数值趋向于 1。 同样从图中也可以看到，函数值在接近 0 或 1 时的作用要小于函数值处于中间阶段的作用。

Logit 模型使用特点

① Logit 模型是一种对称的 S 形曲线模型，它没有关于自变量分布的假设条件，各自变量可以是连续变量，也可以是离散变量，还可以是虚拟变量，适合各种正态分布的数据，但是，如果对于满足多元正态分布的数据，该方法将会增加扩展模型的功能，而且模型求解的稳定性也会被提高。

② Logit 模型在处理反应率在 2%~98%的数据时结果与 Probit 模型非常接近。该模型不仅可以在样本内进行预测，还可以对样本外的数据进行预测。

（3）Gompit 模型

Gompit曲线是由英国统计学家和数学家Gompertz.B提出的，是一种生长曲线，其基本数学式为：

$$y = ke^{-ae^{-bt}} \tag{2}$$

其中 a,b,k 都是常数，$tp = \frac{1}{1+e^{-\varepsilon_i}}$ 为时间序列, y 为对应的时间预测值。初始值为 $y\big|_{t=0} = 0$ ，增长上限为 $y\big|_{t=+\infty} = k$ ，单调递增的数据，有一个拐点为 $(\frac{\ln a}{b}, \frac{k}{e})$ ，利用Gompit模型计算效价或者可信限整个迭代过程与Probit模型计算的方法类似，只需要将Gompit模型的分布函数为 $\Phi(Y) = 1 - e^{-e^{Y}}$ ，应用类似的方法就可以计算出药物的效价。

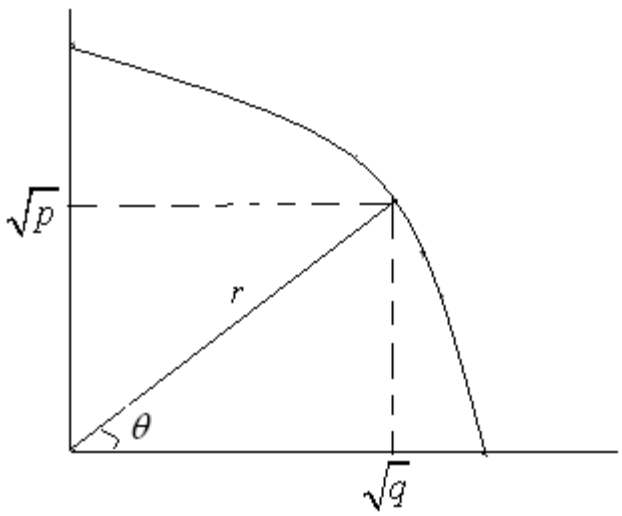
Gompit模型使用特点

① 在生物检定中，当数据的分布曲线为不对称的S形时，可以考虑用Gompit模型来解决。

② Gompit模型的曲线是在此拐点前曲率渐增，拐点后曲率渐减，曲率在半数有效量处增大到最大，故所得的曲线不对称。该模型在图形上呈现反S形分布特征，并具有良好的适用性和成长曲线的一般特点，与Logistic曲线有着相似的特征。

（4）Angle 模型

在生物检定中，角变换是利用反正弦函数将反应率转换为角度，从而去观察生物的相关特征。角变换原理如图所示



由勾股定理有$(\sqrt{p})^2+(\sqrt{q})^2=r^2$，且$p+q=1$，所以$r=1$，则$\sin\theta=\sqrt{p}$。故可得角变换公式为$Y=\arcsin\sqrt{p}$。

当上述角变换公式里的反正弦函数，换成反正切公式，也能作变换，得到跟反正弦函数相类似的结论。

Angle模型使用特点

Angle模型仅仅只适用于反应率在10%~90%的数据，但是角度的权重系数为一常数。当各组动物数相等时，可使计算方法变得简化，在处理实验数据不太复杂的常规检定中具有实用价值。

在Logistic，Angle模型在很大的范围内关于x和P的关系是很相似的，他们只能在反应率是0.05到0.95之间能区别开来。

（5）四种计算方法之间的比较

Probit模型与Logit模型比较

在质反应物质的生物检定中，半数有效量或半数致死量常用于药物的效力或毒力，常规下常常采用对质反应率进行概率转换来获得对数剂量与 Probit 转换值的线性关系，借助于直线回归的相关原理，从而精确地计算半数有效量。但事实上，对质反应率作 Logit 转换往往也能达到统计学意义上的线性关系，但是其效果通常不如 Probit 模型的结果。虽然 Logit 模型和 Probit 模型一样都是定性回归模型的一种，二者产生的原因相同。对于同样的线性回归方程$Y=a+bx$，为确保Y发生的概率介于 0 和 1 之间，使得事件发生的概率模型为非递减函数，通常使用 Probit 模型的概率分布函数对Y进行转换。

Gompit模型和Logit模型比较

他们都是S形增长曲线，增长率都大于零，都有唯一的拐点和一条水平渐近线，他们的形态都和参数有密切的联系。通常，引入最优加权组合的理论。在权重比不出现负数的情况下，以二者组合模型的对数误差平方和最小为目标函数来确定其最优的加权系数，建立最优的加权几何平均模型，通过计算，这样的最优组合的精度比Gompit模型和Logit模型单独计算的精度要高，而且可靠性也得到了相应的提高。

其他详细统计问题请查阅相关文献:

[1]《药品监督与检定中的统计学应用》.谭德讲、马双成. 中国科学技术出版社. 2011

[2]《生物统计学》(第三版). 李春喜等编著. 科学出版社. 2005

[3]《生物实验设计与数据分析》(中文版). Michael J. Keough 著. 蒋志刚等主译. 高等教育出版社. 2003

[4] 化学药物和生物制品临床试验的生物统计学-技术指导原则[H]GCL4-1 (第二稿). 2004

[5]Fundamentals of Biostatistics(seventh edition). 主编Bernard Rosner. USA. 2011

第六章　ReguStats 软件有关功能应用举例

6.1 直接检定模型——洋地黄叶粉的效价测定

㈠　药物实例背景及数据

以下实验及数据来自于中国药典附录 P131 例 1 洋地黄效价测定——鸽最小致死量（MLD）法。本软件运行程序详见程序 **ChP2010 例 1 直接检定法（洋地黄-鸽最小致死剂量法）**。

标准组（S 组）为洋地黄，按标示效价配成 1.0 u/ml 的酊剂，并稀释 25 倍用于试验，试验组（T 组）为洋地黄叶粉，估计效价为 10 u/g，配成 1.0 u/ml 的酊剂，并稀释 25 倍用于试验，试验测得数据如下：

S		T	
$MLD_S(d_S)$	x_S	$MLD_T(d_T)$	x_T
u/kg 体重	$\lg(d_S\times10)$	u/kg 体重	$\lg(d_T\times10)$
1.15	1.061	1.11	1.045
1.01	1.004	1.23	1.090
1.10	1.041	1.06	1.025
1.14	1.057	1.31	1.117
1.06	1.025	0.94	0.973
0.95	0.978	1.36	1.134

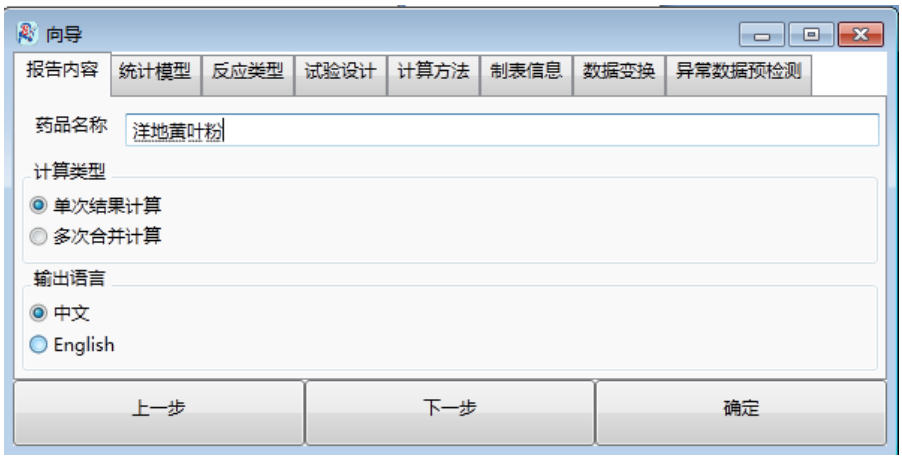
在本试验背景中，运用直接测定法进行效价估计，S 组的标示效价为 1，按照试验设计，S 组稀释倍数为 25，剂量为 1.0。T 组假定估计效价为 10，稀释倍数为 25，剂量为 1.0。

下面运用软件进行效价估计：

㈡　创建向导

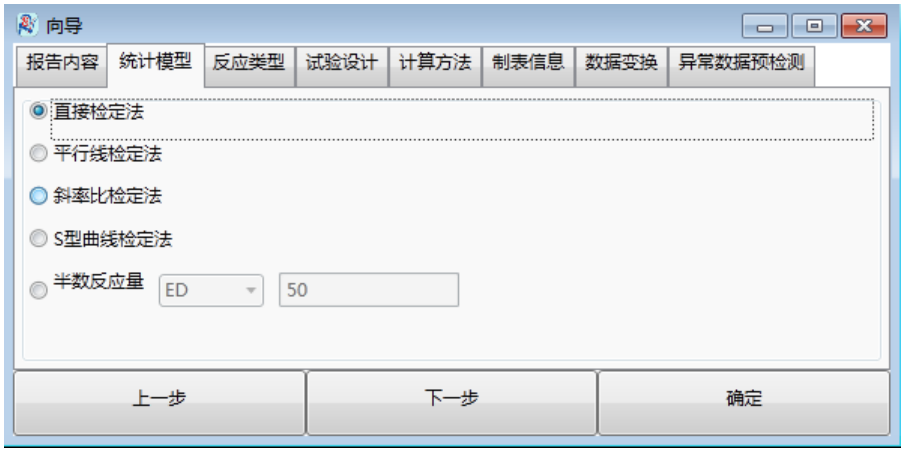
①　报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为洋地黄叶粉效价测定试验，所以在药品名称处填写洋地黄叶粉，计算类型为单次结果计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



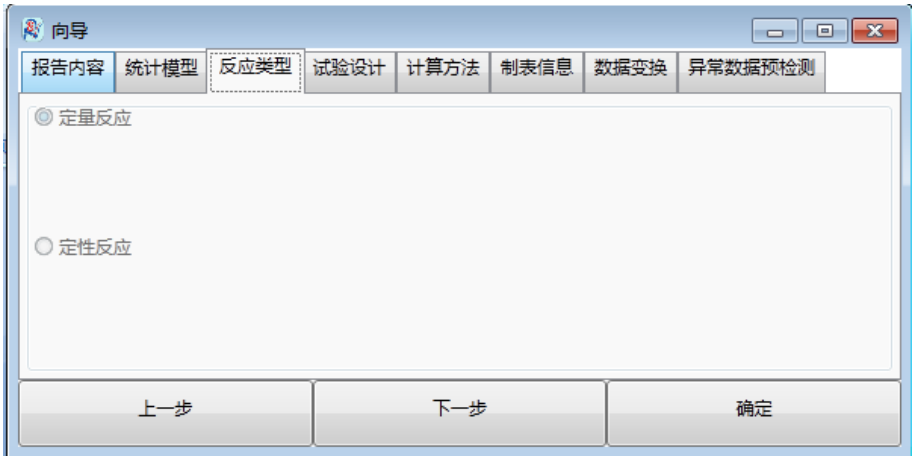
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择直接检定法。



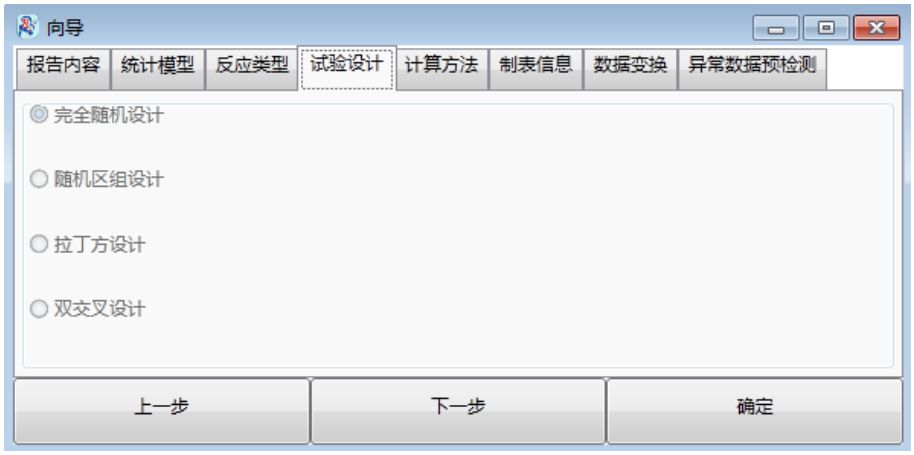
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于直接检定法只适应于定量反应模型，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



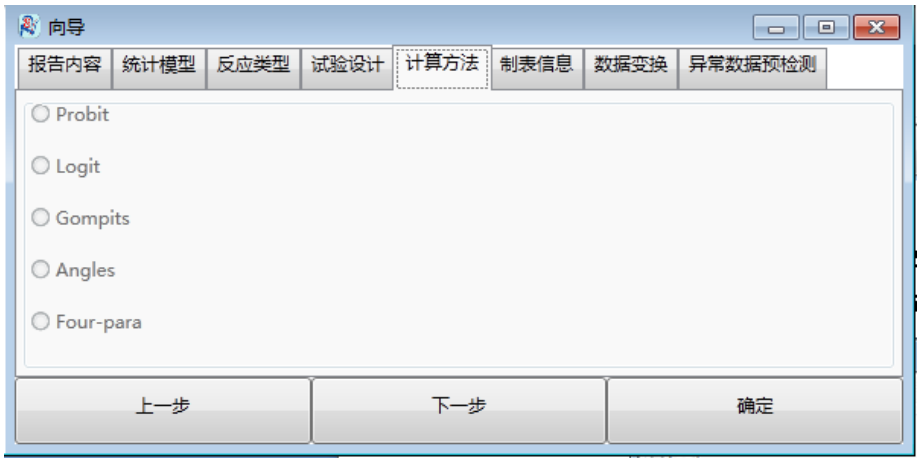
④ 检定设计选项

单击下一步，进入检定设计选项，直接检定法不涉及试验设计方案的选取，所以该选项均为灰色，无法选择，如下图所示：



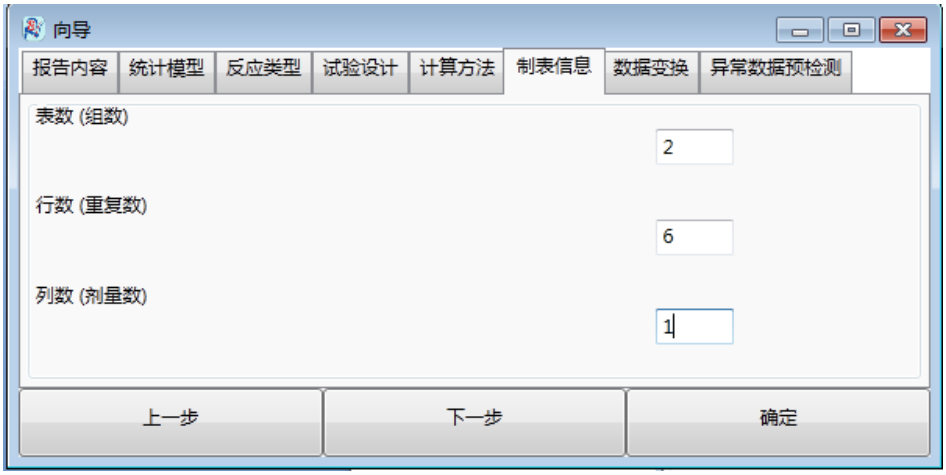
⑤ 计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如，由于直接检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



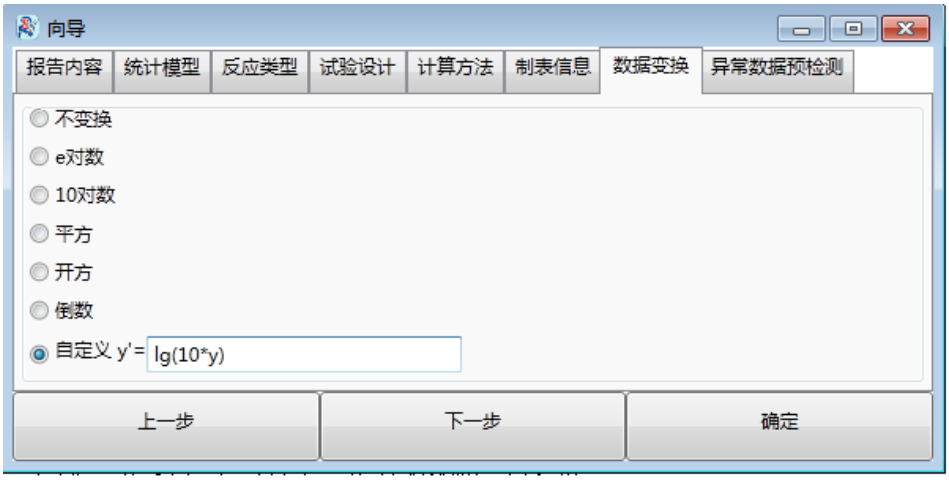
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数，**直接检定法只能限定一列**。



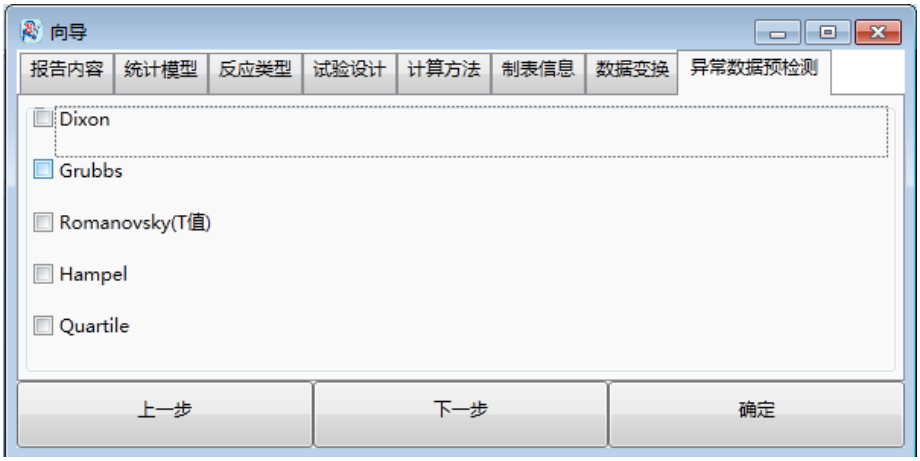
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，在直接检定法中，根据要求针对各个动物的最小致死量数据 d，应做数据变化 lg（10*d）。



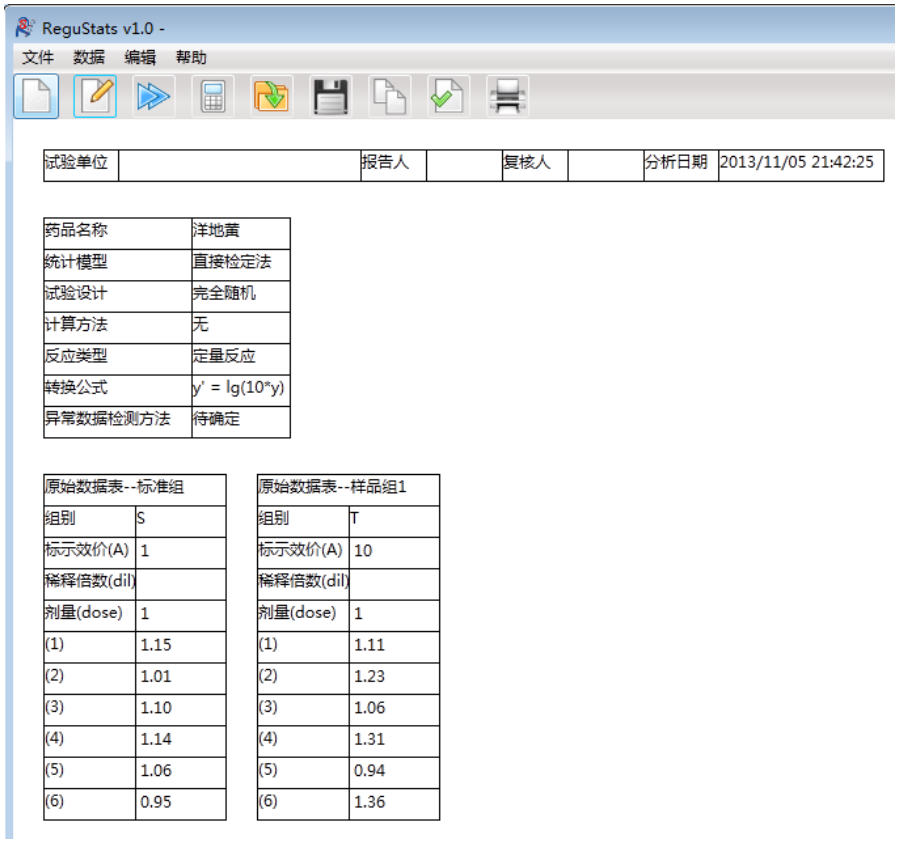
⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在空白表格中输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入。直接检定法只支持一个剂量，剂量数值下方为该剂量下重复试验的数据，其数据为药物对各个动物的最小致死量。



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:42:25

药品名称	洋地黄
统计模型	直接检定法
试验设计	完全随机
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = lg(10*y)
异常数据检测方法	待确定

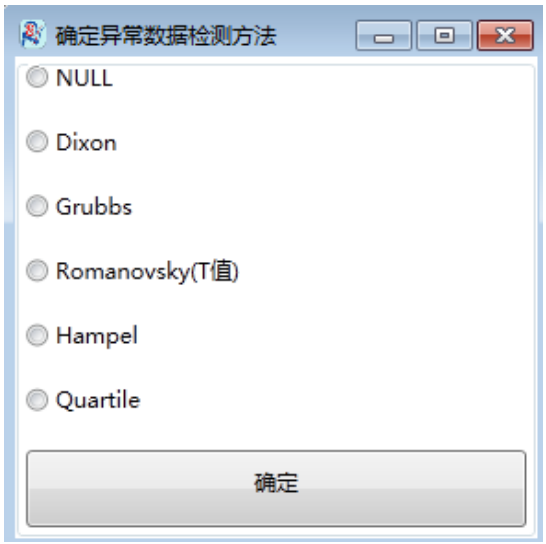
原始数据表--标准组	
组别	S
标示效价(A)	1
稀释倍数(dil)	
剂量(dose)	1
(1)	1.15
(2)	1.01
(3)	1.10
(4)	1.14
(5)	1.06
(6)	0.95

原始数据表--样品组1	
组别	T
标示效价(A)	10
稀释倍数(dil)	
剂量(dose)	1
(1)	1.11
(2)	1.23
(3)	1.06
(4)	1.31
(5)	0.94
(6)	1.36

㈣ 程序运行

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运

行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。



㈤ 结果分析

转换之后的数据：

转换后数据表--标准组	
组别	S
标示效价(A)	1
稀释倍数(dil)	25
剂量(dose)	1
(1)	1.0607
(2)	1.0043
(3)	1.0414
(4)	1.0569
(5)	1.0253
(6)	0.9777

转换后数据表--样品组1	
组别	T
标示效价(A)	10
稀释倍数(dil)	25
剂量(dose)	1
(1)	1.0453
(2)	1.0899
(3)	1.0253
(4)	1.1173
(5)	0.9731
(6)	1.1335

自由度	t值
10	2.2281

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	7.9637	9.1970	10.6213
标准误(Sm)	0.0280639398		
可信限率	14.45%		

6.2 量反应平行线模型

6.2.1 平行线完全随机设计——大鼠皮下注射促肾上腺皮质激素的测定

㈠药物实例背景及数据

以下实验及数据来自欧洲药典（EP）中的 Example 5.1.1。本软件程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.1.1 平行线 2.2.2 完全随机设计（促肾上腺皮质激素大鼠皮下注射法）(A.1.1)**及 **EP7.0 Examples 5.1.1 平行线 2.2.2 完全随机设计（促肾上腺皮质激素大鼠皮下注射法）(A.1.2)**。

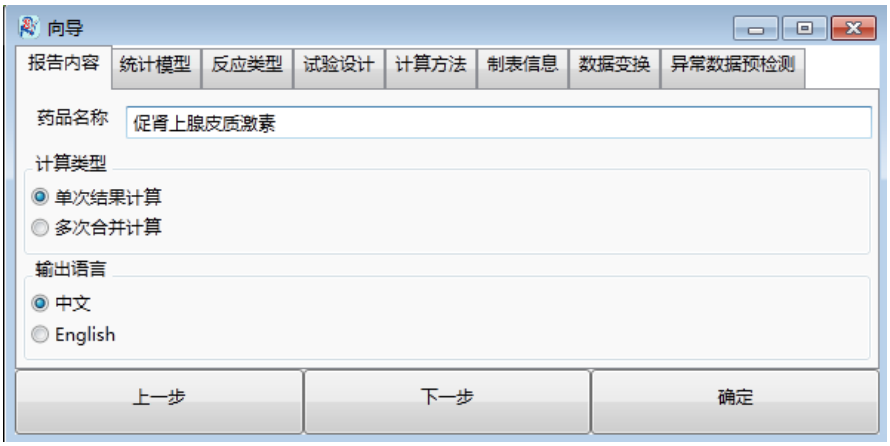
实验描述：标准品组的动物每 100g 体重给予 0.25 unit 和 1.0 unit 的标准制剂。两个制剂试验组的估计效价 1 unit/mg，并且给予与标准制剂相同的剂量。具体给药方式相同，所检测的指标（表中的数据）为每 100g 肾上腺组织中含有的 Vc 量（mg）。通过分析发现制剂 U 组的平行存在问题。试验响应值如下表所示：

	Standard *S*		Preparation *T*		Preparation *U*	
	S_1	S_2	T_1	T_2	U_1	U_2
	300	289	310	230	250	236
	310	221	290	210	268	213
	330	267	360	280	273	283
	290	236	341	261	240	269
	364	250	321	241	307	251
	328	231	370	290	270	294
	390	229	303	223	317	223
	360	269	334	254	312	250
	342	233	295	216	320	216
	306	259	315	235	265	265

㈡ 创建向导

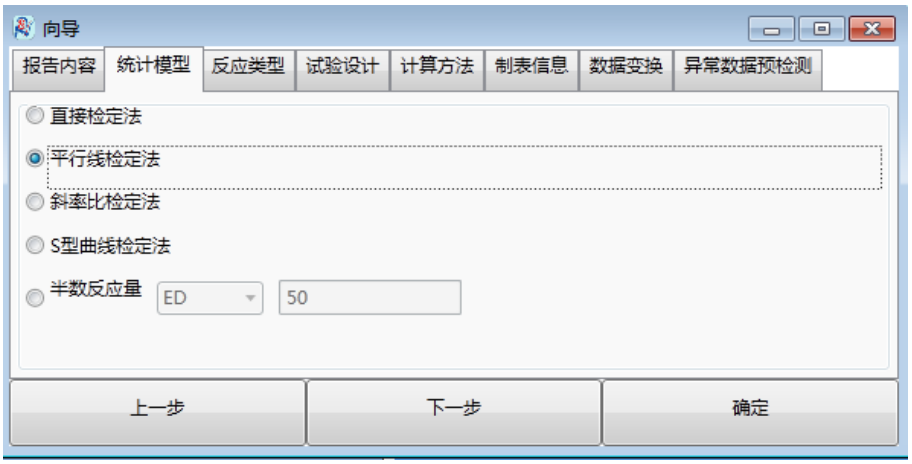
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为皮下注射促肾上腺皮质激素的测定试验，所以在药品名称处填写促肾上腺皮质激素，计算类型为单次结果计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



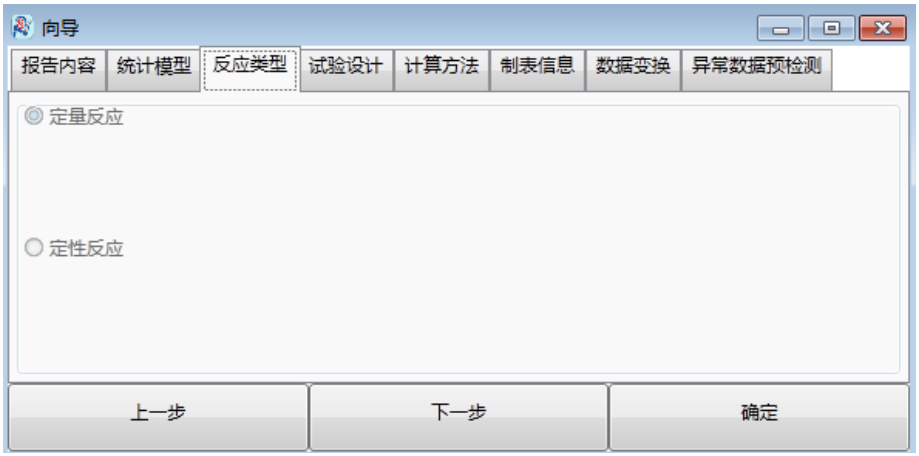
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择平行线检定法。



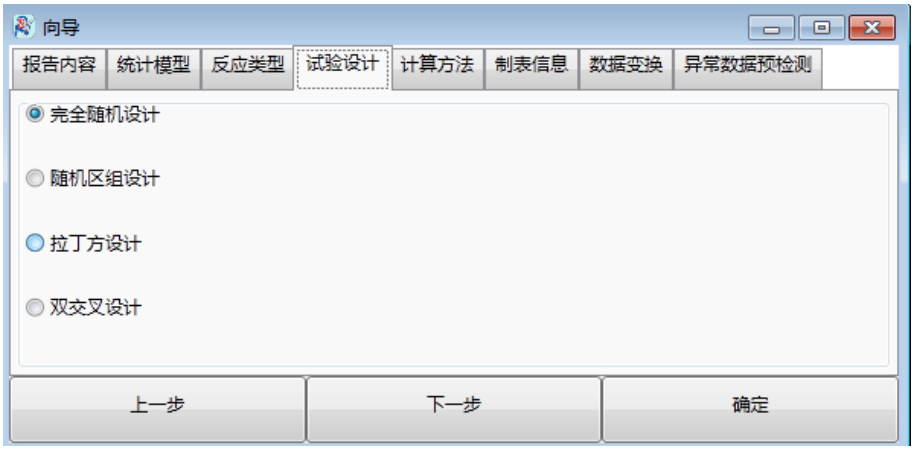
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于平行线模型的检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



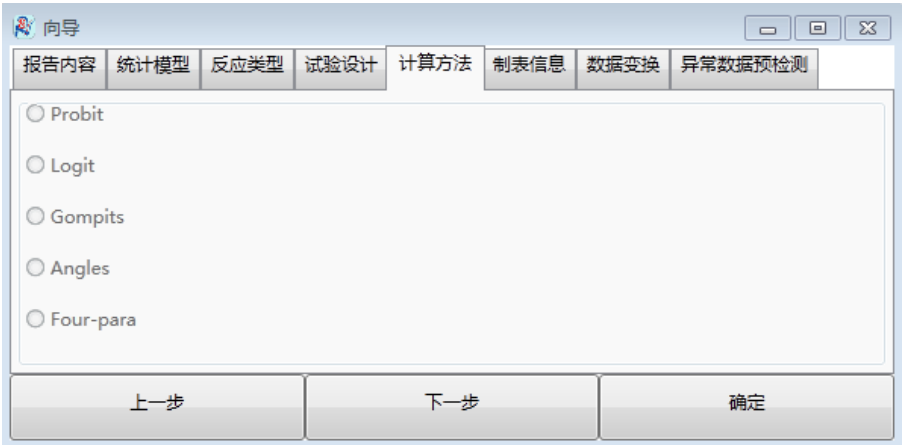
④检定设计选项

单击下一步，进入检定设计选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



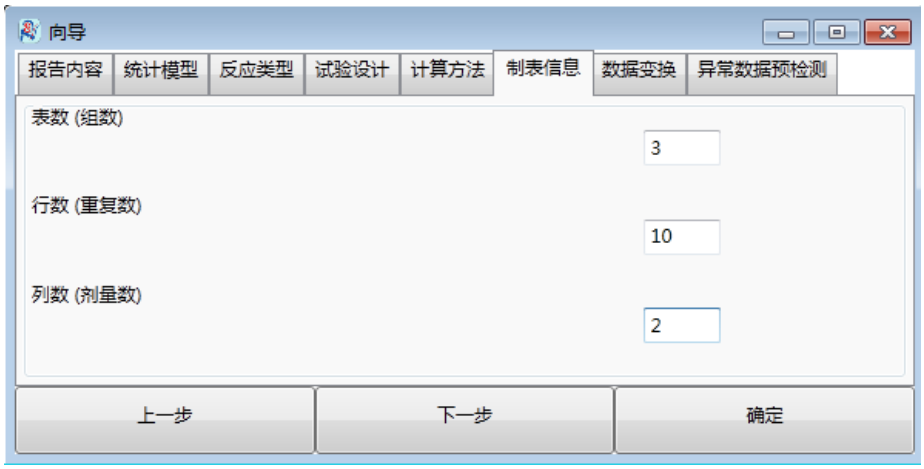
⑤计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如下图所示，由于平行线模型不涉及计算方法的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



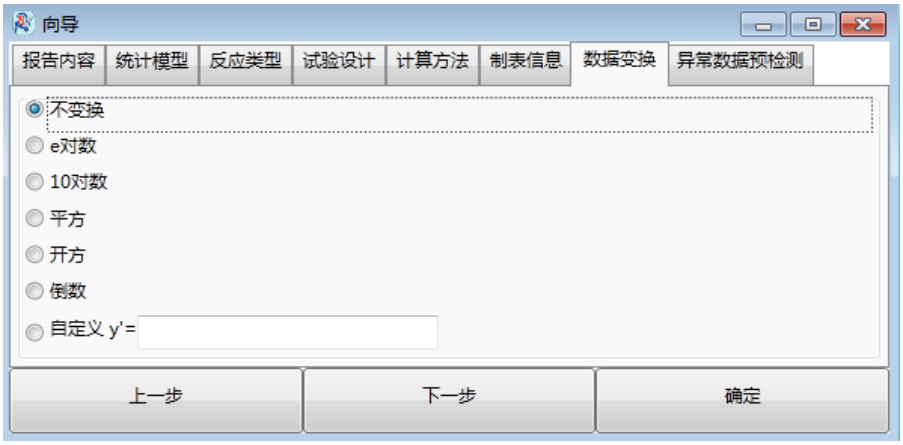
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。



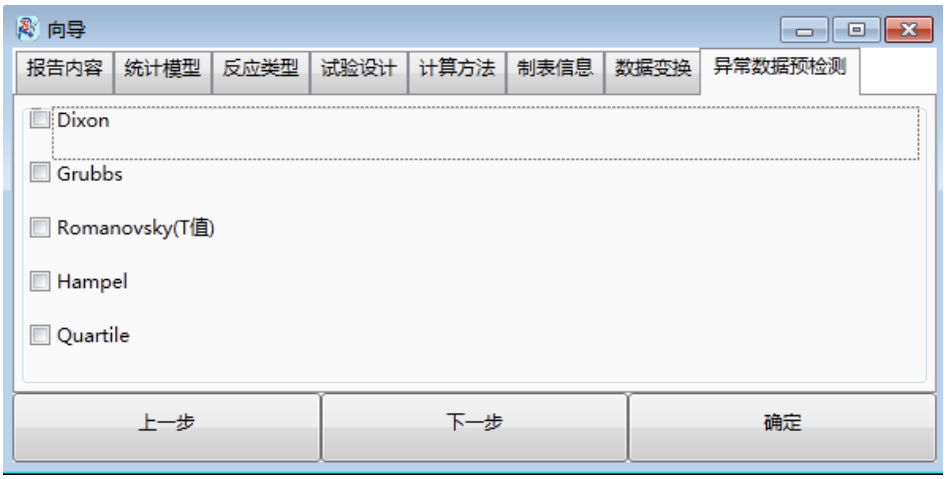
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测，点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格中输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，数据后面不再输入各自的单位，稀释倍数若空白不填，则软件默认无稀释。剂量（dose）后面各列为不同的剂量（如 0.25,1.0），剂量数值下方为该剂量下重复试验的数据。输入完成的表格如下所示：

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:43:31

药品名称	肾上腺皮质激素
统计模型	平行线检定法
试验设计	完全随机
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--标准组		
组别	S	
标示效价(A)	1 unit/mg	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.25	1.0
(1)	300	289
(2)	310	221
(3)	330	267
(4)	290	236
(5)	364	250
(6)	328	231
(7)	390	229
(8)	360	269
(9)	342	233
(10)	306	259

原始数据表--样品组1		
组别	T	
标示效价(A)	1 unit/mg	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.25	1.0
(1)	310	230
(2)	290	210
(3)	360	280
(4)	341	261
(5)	321	241
(6)	370	290
(7)	303	223
(8)	334	254
(9)	295	216
(10)	315	235

原始数据表--样品组2		
组别	U	
标示效价(A)	1 unit/mg	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.25	1.0
(1)	250	236
(2)	268	213
(3)	273	283
(4)	240	269
(5)	307	251
(6)	270	294
(7)	317	223
(8)	312	250
(9)	320	216
(10)	265	265

注意：无稀释倍数输入时，dose 的单位与标示效价的单位相同，即 0.25 的单位为 unit。

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
试品间	2	6256.63333	3128.31667	4.08625	0.02226 (*)
回归	1	63830.81667	63830.81667	83.37661	0.00000 (***)
非平行	2	8218.23333	4109.11667	5.36738	0.00748 (**)
剂间	5	78305.68333	15661.13667	20.45677	0.00000 (***)
残差	54	41340.90000	765.57222		
总和	59	119646.58333	2027.90819		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们在方差分析中主要看 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值列，试品间对应的 $P = 0.02226 < 0.05$，说明该试验试品间有差异，应重新进行重复试验；回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的，非平行性所对应的的 $P = 0.00748 < 0.05$，表明试验组和标准组模型回归直线之间的平行性在 $\alpha = 0.05$ 的显著水平下是不可以接受的。

② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
试品间有显著性差异，建议进行重复试验，应参考所得结果重新估计样品的效价或重新调整剂量试验。 回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非平行有显著性差异，至少有一组直线与其他不平行。个别组有离群点，请剔除该组或剔除异常值后重新统计。
试验可靠性检验统计学意义不显著，结论可信度较低，使用需谨慎。

该可靠性分析结论表明，应剔除一个试验组后重新进行平行性模型分析。

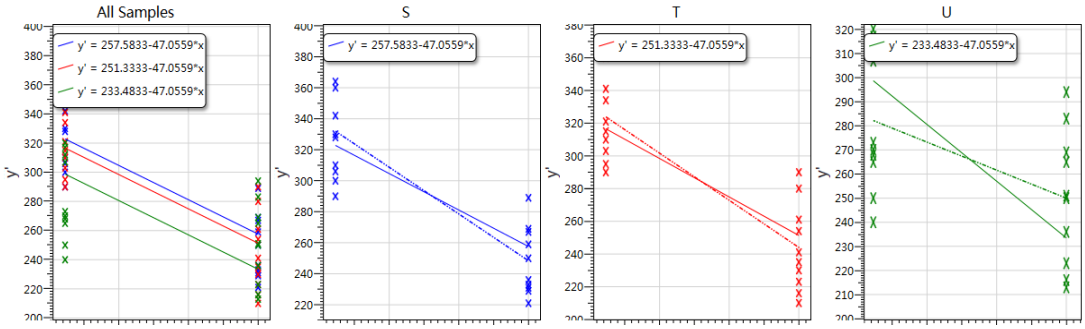
③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	0.7836	1.1420	1.6869
相对标示效价变化率	78.36%	114.20%	168.69%
相对估计效价变化率	68.62%	100.00%	147.71%
标准误(Sm)	0.0830394191		
可信限率	39.55%		

试验组			
组别	U		
	下限	估计值	上限
效价	1.1481	1.6689	2.5550
相对标示效价变化率	114.81%	166.89%	255.50%
相对估计效价变化率	68.80%	100.00%	153.10%
标准误(Sm)	0.0866400696		
可信限率	42.15%		

④ 模型在 $y' - \ln(\text{dose})$ 坐标系下的回归直线图及回归函数

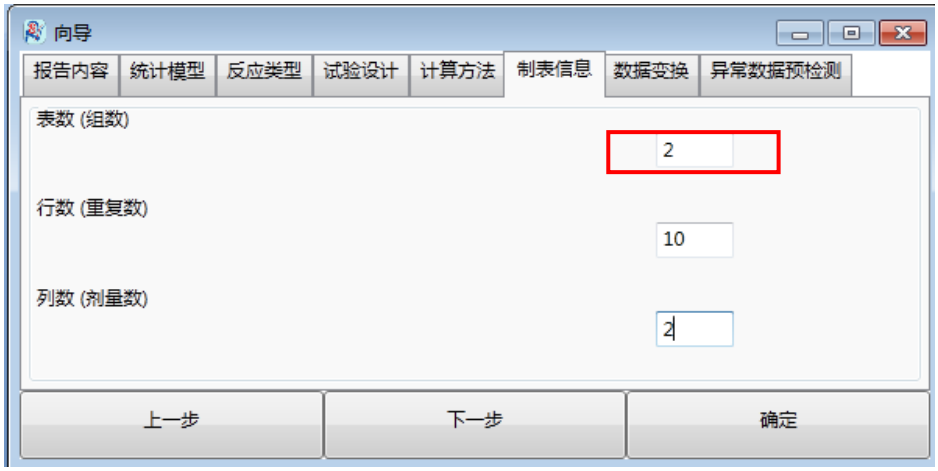
横轴表示剂量的对数即 ln(dose），左侧为低浓度，右侧为高浓度。纵轴为响应值。“×”表示为单独处理中的响应值。图中，S 组，T 组，U 组的坐标系内，各自出现了实线直线和虚线直线，其中实线代表了校正后的回归直线，虚线是真实的回归直线，若二者偏差较大，说明，该组数据和其他组数据的平行性不显著，应在试验中剔除后再继续做平行性检定。



从该图上可以看出，U 组数据校正后的直线和原始直线偏离较大，所以下一步分析中应剔除 U 组后再进行量反应平行性模型分析。

⑤ 在该数据的基础上单击 按钮，改写向导，剔除 U 组。

在向导的制表信息一栏，将表数由数字 3 改成数字 2，如下图所示：



系统默认从右侧开始删除表格和从最后一行开始删除表格中数据，即把 U 组完全剔除。剔除之后的表格信息如下图所示：

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:44:14

药品名称	肾上腺皮质激素
统计模型	平行线检定法
试验设计	完全随机
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--标准组		
组别	S	
标示效价(A)	1 unit/mg	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.25	1.0
(1)	300	289
(2)	310	221
(3)	330	267
(4)	290	236
(5)	364	250
(6)	328	231
(7)	390	229
(8)	360	269
(9)	342	233
(10)	306	259

原始数据表--样品组1		
组别	T	
标示效价(A)	1 unit/mg	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.25	1.0
(1)	310	230
(2)	290	210
(3)	360	280
(4)	341	261
(5)	321	241
(6)	370	290
(7)	303	223
(8)	334	254
(9)	295	216
(10)	315	235

⑥ 在剔除 U 组后的数据上进行平行线分析，单击运行，得到如下方差分

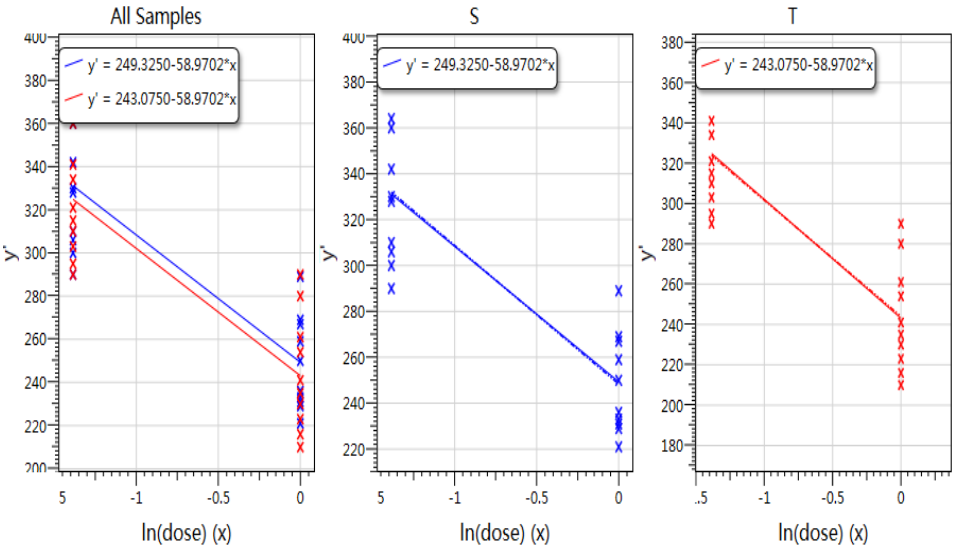
析表、可靠性分析表、效价估计表以及模型回归图形和函数如图：

该结果显示，S 组和 T 组平行性显著，回归显著，符合平行性模型。

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
试品间	1	390.62500	390.62500	0.52892	0.47177
回归	1	66830.62500	66830.62500	90.49067	0.00000 (***)
非平行	1	34.22500	34.22500	0.04634	0.83077
剂间	3	67255.47500	22418.49167	30.35531	0.00000 (***)
残差	36	26587.30000	738.53611		
总和	39	93842.77500	2406.22500		

可靠性分析结论
试品间无显著差异。 回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非平行无显著性差异，可认为多组直线平行。
试验结论有效，可靠。

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	0.8250	1.1118	1.5136
相对标示效价变化率	82.50%	111.18%	151.36%
相对估计效价变化率	74.20%	100.00%	136.14%
标准误(Sm)	0.0649778085		
可信限率	30.97%		



6.2.2 平行线三剂量拉丁方设计——利用矩形托盘测定抗生素琼脂扩散

㈠ 药物实例背景及数据

以下实验及数据来自于欧洲药典（EP）Example 5.1.2。本软件程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.1.2 平行线 3.3 拉丁方设计（抗生素溶斑法）(A.1.3)**。

实验描述：抗生素标准制剂组效价为 4855 IU/mg。试验组（T 组）有一个指定的估计效价 5600 IU/mg。为了制备储备溶液，进行如下稀释：将 25.2 mg 标准制剂溶于 24.5ml 溶剂；将 21.4mg 待测制剂溶于 23.95ml 溶剂。分别取储备液，稀释成储备溶液的 1/20，1/30，1/45 作为试验组的剂量，即试验组的三个剂量比（剂间距）为 1.5。所以标准组的稀释倍数(dil)为 25.2/24.5，试验组的稀释倍数(dil)为 21.4/23.95。标准组和试验组数据为抗生素所产生的溶斑值（mm×10），具体如下图所示：

Standard			
Id.	S		
Ass. pot.	4855 IU/mg		
Reconsitution	25.2 mg/24.5 ml		
Doses	1/45	1/30	1/20
(1)	161	171	187
(2)	150	172	192
(3)	161	174	195
(4)	163	184	194
(5)	151	176	201
(6)	166	182	198

Sample 1			
Id.	T		
Ass. pot.	5600 IU/mg		
Reconsitution	21.4 mg/23.95 ml		
Doses	1/45	1/30	1/20
(1)	160	178	194
(2)	151	170	192
(3)	151	162	193
(4)	160	171	199
(5)	154	181	202
(6)	161	186	193

㈡ 拉丁方阵的转换结果介绍

对于上述 36 个试验数据，可以看成是一个 6×6 的矩阵 L，每个剂量下的数据看成是矩阵的一列，各剂量下的第 i 次试验看成是矩阵的第 i 行，所以：

$$L=\begin{pmatrix} 161 & 171 & 187 & 160 & 178 & 194 \\ 150 & 172 & 192 & 151 & 170 & 192 \\ 161 & 174 & 195 & 151 & 162 & 193 \\ 163 & 184 & 194 & 160 & 171 & 199 \\ 151 & 176 & 201 & 154 & 181 & 202 \\ 166 & 182 & 198 & 161 & 186 & 193 \end{pmatrix}$$

此例所用的6×6拉丁表为：

表　6×6拉丁表

1	4	5	3	2	6
4	6	1	2	5	3
5	3	2	1	6	4
3	2	6	4	1	5
2	5	3	6	4	1
6	1	4	5	3	2

对原标准组（S 组）和试验（T 组）应用该6×6拉丁表之后，形成新的标准组和试验组数据，记成S'和T'，按照该拉丁表的设计，我们以拉丁表的第一行为例，得到的新的L'矩阵第一行元素为：

$$L'_{11}=L_{11}, L'_{12}=L_{14}, L'_{13}=L_{15}, L'_{14}=L_{13}, L'_{15}=L_{12}, L'_{16}=L_{16}$$

以此类推，得到拉丁表的其余 5 行元素，最终新的L'矩阵为：

$$L'=\begin{pmatrix} 161 & 160 & 178 & 187 & 171 & 194 \\ 151 & 192 & 150 & 172 & 170 & 192 \\ 162 & 195 & 193 & 161 & 174 & 151 \\ 194 & 184 & 199 & 160 & 163 & 171 \\ 176 & 181 & 201 & 202 & 154 & 151 \\ 193 & 166 & 161 & 186 & 198 & 182 \end{pmatrix}$$

L'的 1,2,3 列为S'的各剂量下的数据，L'的 4,5,6 列为T'的各剂量下的数据。

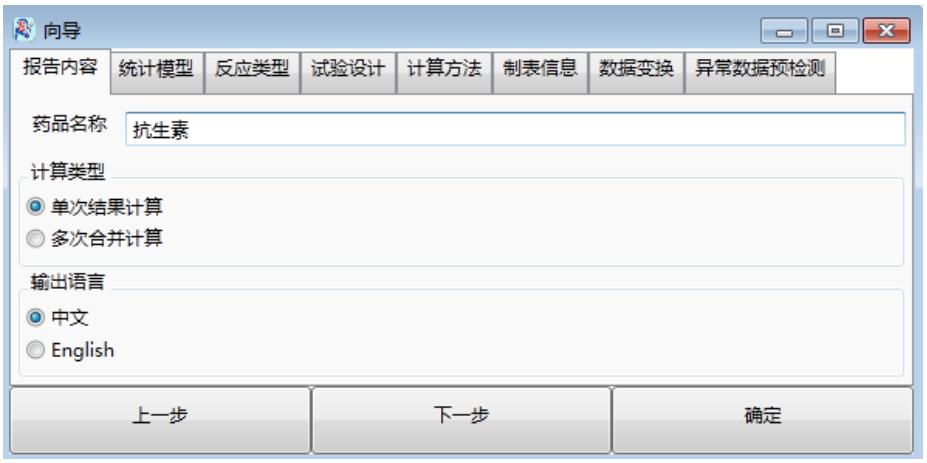
㈢　软件操作步骤

创建向导:

①　报告内容填写

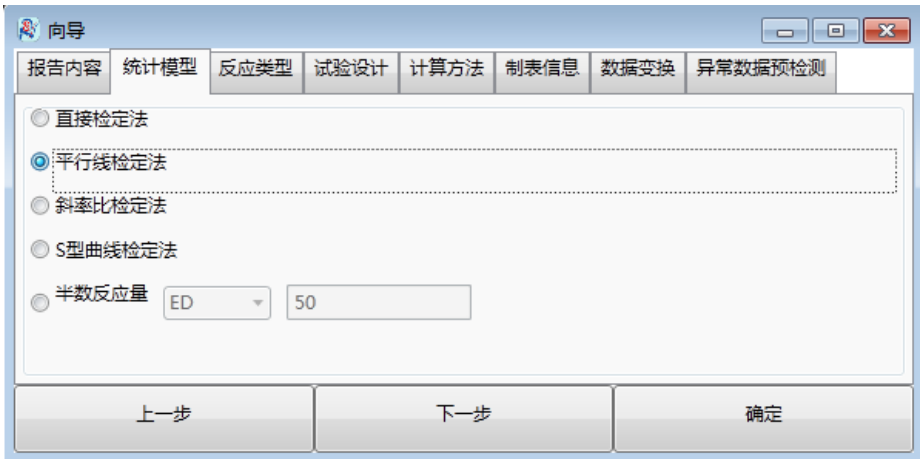
打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为抗生素琼脂扩散的测定试验，所以在药品名称处填写抗生素，计

算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



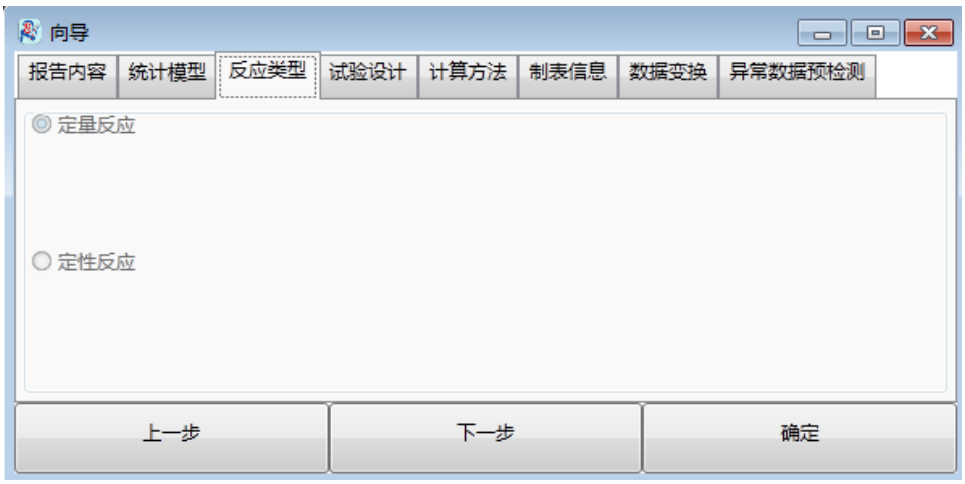
② 检定方法选择

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导 ，进入向导选项如下图，选择平行线检定法。



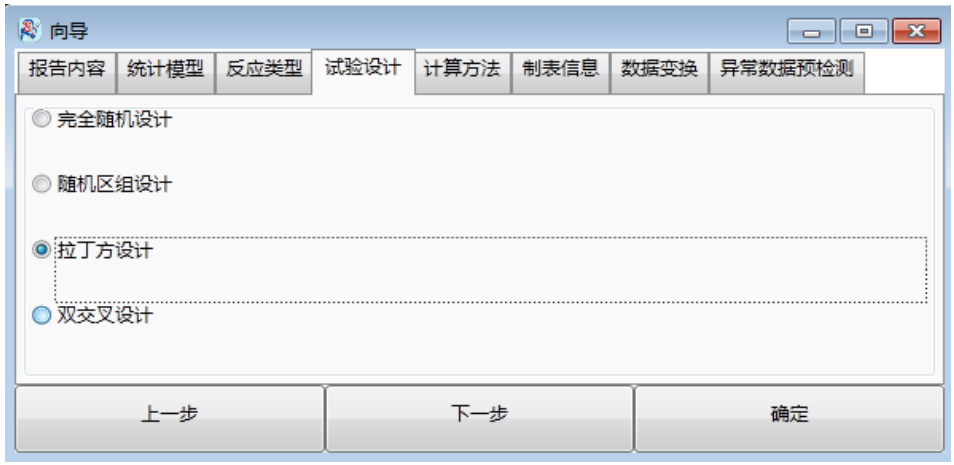
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于平行线检定法只适应于定量反应模型，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



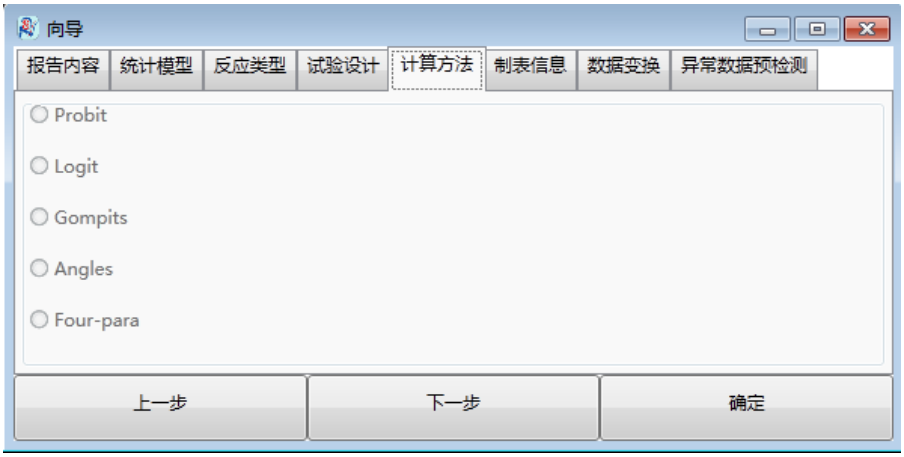
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



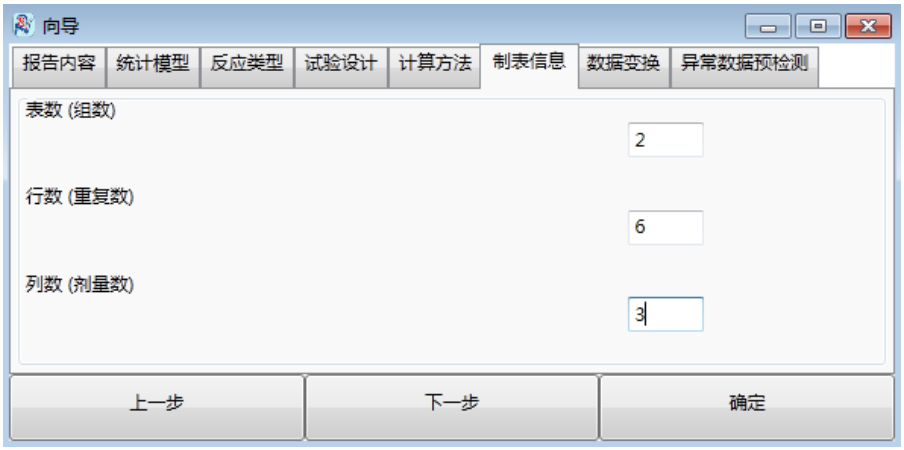
⑤计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如下图所示，由于平行线检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



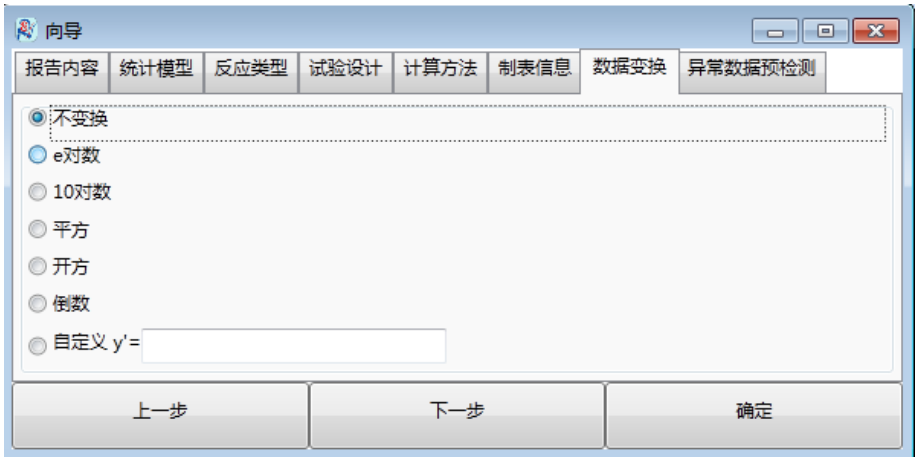
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。



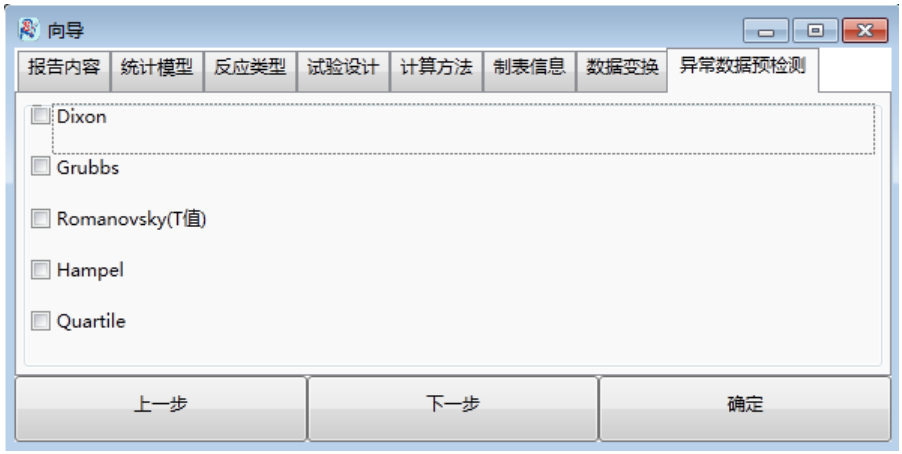
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格以及一个空白的拉丁方表格。



数据输入:

拉丁方表的输入按照本例选定的6×6拉丁表数据输入，如下表所示：

拉丁方设计数据转换表 (标准表->试验表)					
1	4	5	3	2	6
4	6	1	2	5	3
5	3	2	1	6	4
3	2	6	4	1	5
2	5	3	6	4	1
6	1	4	5	3	2

输入 S 组和 T 组数据如下表所示：

原始数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	4855 IU/mg		
稀释倍数(dil)	25.2/24.5 mg/ml		
剂量(dose)	1/45	1/30	1/20
(1)	161	171	187
(2)	150	172	192
(3)	161	174	195
(4)	163	184	194
(5)	151	176	201
(6)	166	182	198

原始数据表--样品组1			
组别	T		
标示效价(A)	5600 IU/mg		
稀释倍数(dil)	21.4/23.95 mg/ml		
剂量(dose)	1/45	1/30	1/20
(1)	160	178	194
(2)	151	170	192
(3)	151	162	193
(4)	160	171	199
(5)	154	181	202
(6)	161	186	193

注意：由于输入了稀释倍数，dose 的单位为稀释后的溶液单位，即 dose 的值 1/45，1/30，1/20 的单位为 ml 或者为稀释溶液后所取体积份数。

程序运行及结果:

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

结果分析：

① 转换之后的数据 S' 组和 T' 组

拉丁方数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	4855 IU/mg		
稀释倍数(dil)	25.2/24.5 mg/ml		
剂量(dose)	1/45	1/30	1/20
(1)	161.0000	160.0000	178.0000
(2)	151.0000	192.0000	150.0000
(3)	162.0000	195.0000	174.0000
(4)	194.0000	184.0000	199.0000
(5)	176.0000	181.0000	201.0000
(6)	193.0000	166.0000	161.0000

拉丁方数据表--样品组1			
组别	T		
标示效价(A)	5600 IU/mg		
稀释倍数(dil)	21.4/23.95 mg/ml		
剂量(dose)	1/45	1/30	1/20
(1)	187.0000	171.0000	194.0000
(2)	172.0000	170.0000	192.0000
(3)	161.0000	193.0000	151.0000
(4)	160.0000	163.0000	171.0000
(5)	202.0000	154.0000	151.0000
(6)	186.0000	198.0000	182.0000

注意：由于输入了稀释倍数，dose 的单位为稀释后的溶液单位，即 dose 的值 1/45，1/30，1/20 的单位为 ml 或者稀释溶液后所取体积份数。

② 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
试品间	1	11.11111	11.11111	0.53505	0.47298
回归	1	8475.04167	8475.04167	408.10795	0.00000 (***)
非平行	1	18.37500	18.37500	0.88483	0.35811
非线性	2	5.47222	2.73611	0.13175	0.87731
标准组	1	0.02778	0.02778	0.00134	0.97119
样品组1	1	5.44444	5.44444	0.26217	0.61424
剂间	5	8510.00000	1702.00000	81.95827	0.00000 (***)
行间	5	412.00000	82.40000	3.96790	0.01158 (*)
列间	5	218.66667	43.73333	2.10594	0.10692
残差	20	415.33333	20.76667		
总和	35	9556.00000	273.02857		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们在方差分析中主要看 P 值得大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值列，试品间对应的 $P = 0.47298 > 0.05$，说明该试验试品间无差异，试验是有效的；回归对应的 $P = 0.00000 < 0.01$，说明该模型回归是高度显著的，非平行性所对应的的 P 值，$P = 0.35811 > 0.05$，表明试验组和标准组模型回归直线之间的平行性在 $\alpha = 0.05$ 的显著水平下是可以接受的，即平行线模型是适用的，非线性对应的 P 值均大于 0.05，说明变量间呈直线关系。

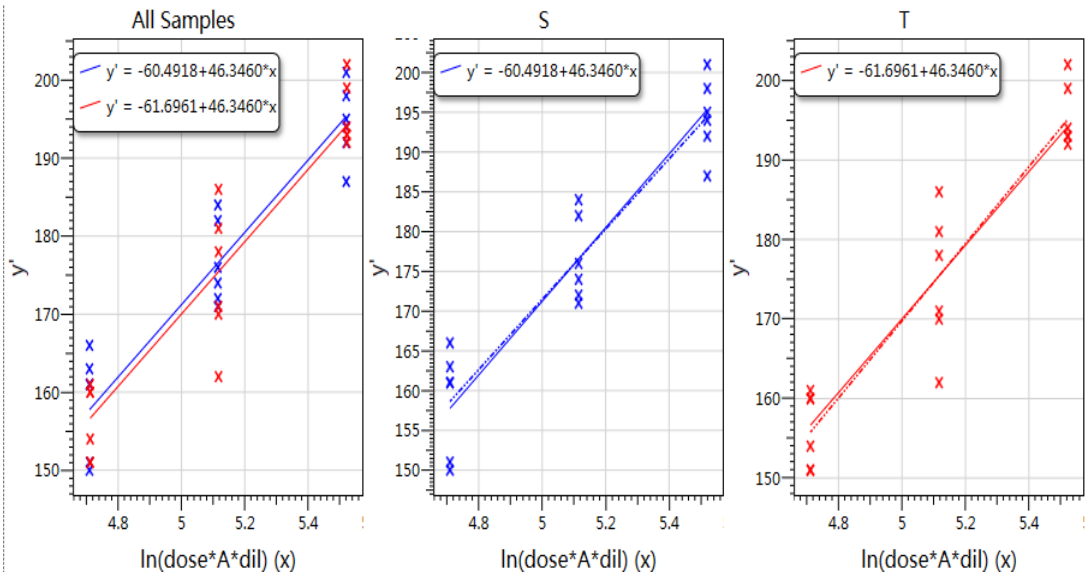
③ 系统可靠性结论分析表

可靠性分析结论
试品间无显著差异。 回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非平行无显著性差异，可认为多组直线平行。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。 标准组无显著差异，可认为变量间呈直线关系。 样品组1无显著差异，可认为变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

④试验组效价估计表

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	5092.3689	5456.3665	5843.3620
相对标示效价变化率	90.94%	97.44%	104.35%
相对估计效价变化率	93.33%	100.00%	107.09%
标准误(Sm)	0.0143202256		
可信限率	6.88%		

⑤ $y' - \ln(\text{dose}*A*\text{dil})$ 坐标系下的各组回归直线拟合图及回归函数



6.2.3 平行线模型双交叉设计——家兔皮下注射胰岛素的测定

(一) 药物实例背景及数据

以下实验及数据来自于欧洲药典（EP）Example 5.1.5。本软件程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.1.5 平行线 2.2 双交叉设计（胰岛素家兔皮下注射法）**。

实验描述：在胰岛素效价测定中，一般使用家兔（EP）或小鼠（ChP）进行双交叉设计的实验。在本实验中采用家兔做为实验对象。分别给予标准组（S_1 组

和 S_2 组）剂量为 1unit/ml 和 2 unit/ml；试验组（T_1 组和 T_2 组）根据估计效价 40 unit/ml 给予待测制剂的等同剂量。根据下表设计给予家兔皮下 0.5ml 的药物溶液；其测定结果值为在 1 小时和 2.5 小时的血糖值（mg/100ml）；具体结果如下：

	Group of rabbits			
	1	2	3	4
Day 1	S_1	S_2	T_1	T_2
Day 2	T_2	T_1	S_2	S_1

根据上表设计，在给定的剂量下测得响应值为：

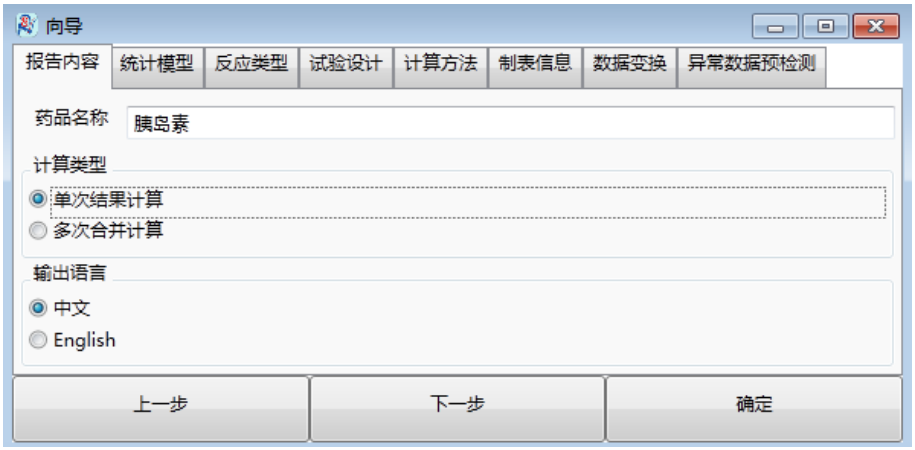
Group 1		Group 2		Group 3		Group 4	
S_1	T_2	S_2	T_1	T_1	S_2	T_2	S_1
112	104	65	72	105	91	118	144
126	112	116	160	83	67	119	149
62	58	73	72	125	67	42	51
86	63	47	93	56	45	64	107
52	53	88	113	92	84	93	117
110	113	63	71	101	56	73	128
116	91	50	65	66	55	39	87
101	68	55	100	91	68	31	71

下面利用生物检定统计软件对该测定值进行统计分析：

㈡ 创建向导

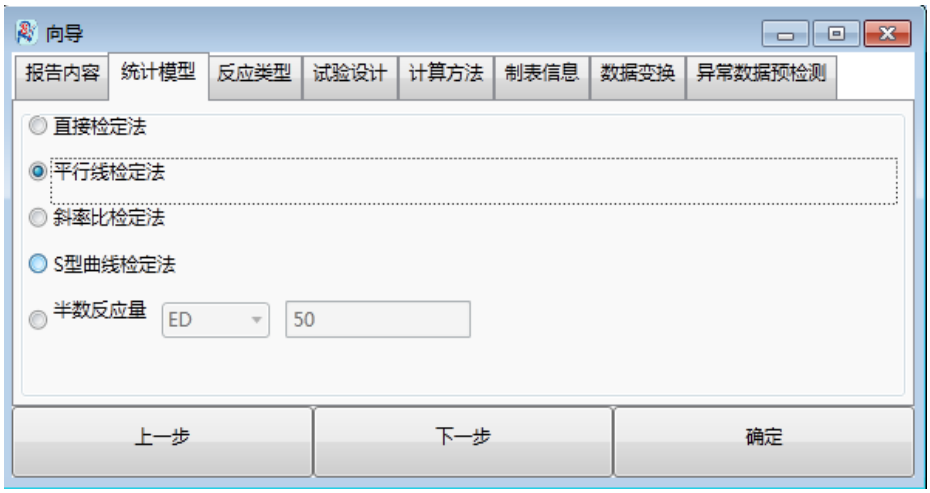
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为家兔皮下注射胰岛素的测定试验，所以在药品名称处填写胰岛素，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



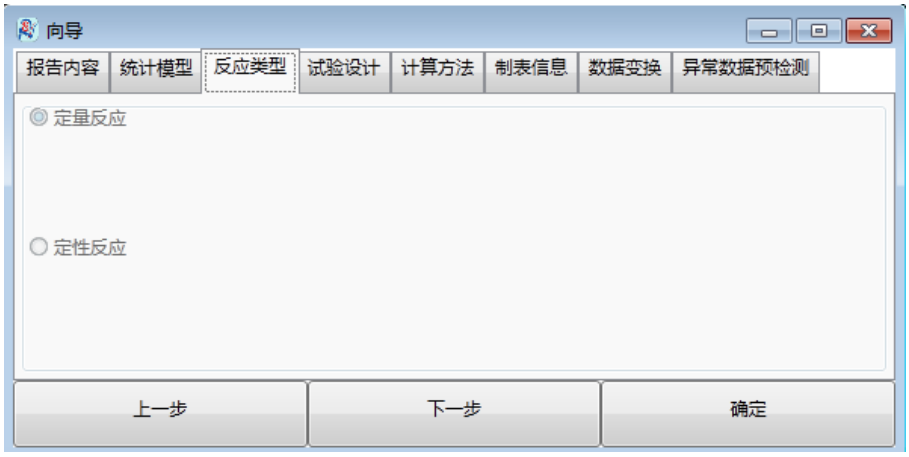
② 检定方法选择

打开生物检定统计软件，击文件/新建向导 ，进入向导选项如下图所示，选择平行线检定法。



③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于平行线检定法只适应于定量反应模型，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：

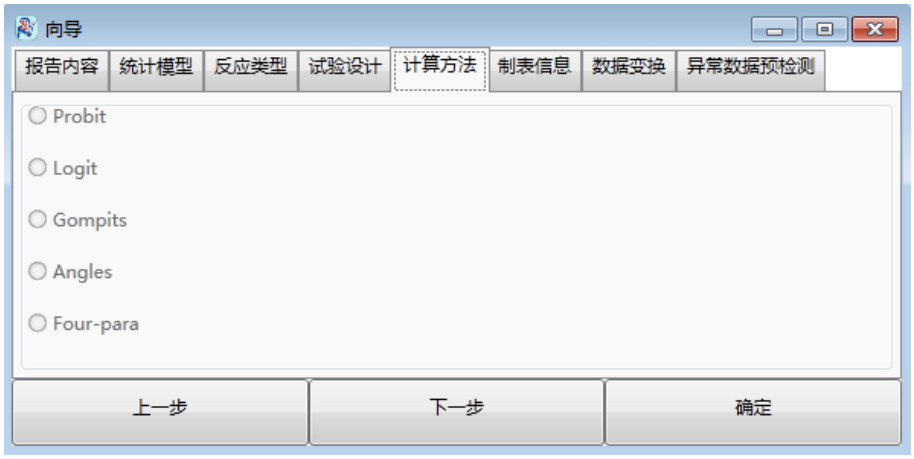


④ 检定设计选项

单击下一步，进入检定设计选项如下图所示，选择双交叉设计：

⑤ 计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如下图所示，由于平行线检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



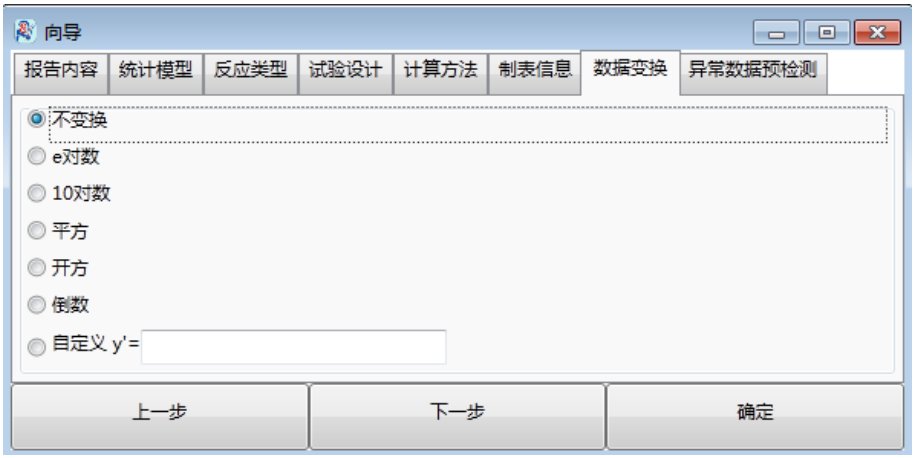
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。

注意：双交叉设计的表数必须输入 4。

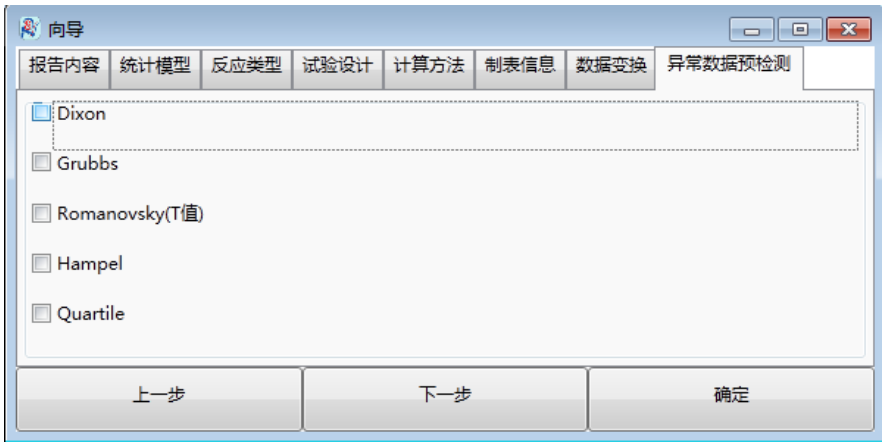
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

该表格中，自动生成的S_{11}表示S_1剂量下的第一次试验，S_{12}表示S_1剂量下的第二次试验，S_{21}表示S_2剂量下的第一次试验，S_{22}表示S_2剂量下的第二次试验，T_{11}表示T_1剂量下的第一次试验，T_{12}表示T_1剂量下的第二次试验，T_{21}表示T_2剂量下的第一次试验，T_{22}表示T_2剂量下的第二次试验。

组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，数据后面不再输入各自的单位，稀释倍数若空白不填，则软件默认无稀释。剂量（dose）一栏后面各列为不同的剂量），剂量数值下方为该剂量下重复试验的数据。该例中，S_1,T_1组剂量均为 1，S_2,T_2组剂量均为 2，所有组的效价均为 40，数据输入后结果如下表所示：

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:44:59

药品名称	胰岛素
统计模型	平行线检定法
试验设计	双交叉
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--第1组		
组别	S11	T22
标示效价(A)	27	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	25	50
(1)	103.99	87.01
(2)	113.21	104.61
(3)	106.94	100.26
(4)	94.19	96.10
(5)	103.99	74.56
(6)	92.82	82.27
(7)	108.50	87.01
(8)	89.09	84.64
(9)	131.45	93.34
(10)	111.64	88.20

原始数据表--第2组		
组别	S21	T12
标示效价(A)	27	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	50	25
(1)	83.21	119.43
(2)	61.05	76.53
(3)	85.56	139.40
(4)	76.54	126.95
(5)	76.54	97.49
(6)	78.70	130.90
(7)	72.42	93.34
(8)	77.52	121.21
(9)	76.54	110.93
(10)	64.58	94.72

原始数据表--第3组		
组别	T11	S22
标示效价(A)	27	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	25	50
(1)	116.54	85.82
(2)	94.19	77.72
(3)	92.82	100.26
(4)	103.99	79.89
(5)	113.21	87.01
(6)	101.05	100.26
(7)	106.94	122.99
(8)	92.82	82.27
(9)	98.31	91.95
(10)	127.53	106.19

原始数据表--第4组		
组别	T21	S12
标示效价(A)	27	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	50	25
(1)	105.37	128.92
(2)	73.40	126.95
(3)	74.38	106.19
(4)	72.42	100.26
(5)	66.54	90.77
(6)	106.94	109.35
(7)	98.31	103.22
(8)	113.21	132.88
(9)	61.83	89.58
(10)	95.56	110.93

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
非平行	1	1453.51563	1453.51563	1.06377	0.31118
次间×试品间	1	31.64063	31.64063	0.02316	0.88014
次间×回归	1	50.76563	50.76563	0.03715	0.84854
动物组间残差	28	38258.81250	1366.38616		
动物间	31	39794.73438	1283.70111	9.35043	0.00000 (***)
试品间	1	0.14063	0.14063	0.00102	0.97470
回归	1	8859.51563	8859.51563	64.53236	0.00000 (***)
次间	1	478.51563	478.51563	3.48549	0.07241
次间×非平行	1	446.26563	446.26563	3.25058	0.08217
动物组内残差	28	3844.06250	137.28795		
总和	63	53423.23438	847.98785		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们在方差分析中主要看 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值列，非平行对应的 $P = 0.31118 > 0.05$，说明两组数据的平行性在显著性水平 0.05 下是可以接受的；次间×试品间的 $P = 0.88014 > 0.05$，可以认为次间与试品间无交互作用；次间×回归间的 $P = 0.84854 > 0.05$，可以认为次间不影响变量间的回归关系，回归有效；回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明回归显著有效，有统计学意义；次间×非平行的 $P = 0.08217 > 0.05$，说明次间不影响两组变量间直线的平行关系，回归有效。

②系统可靠性分析结论

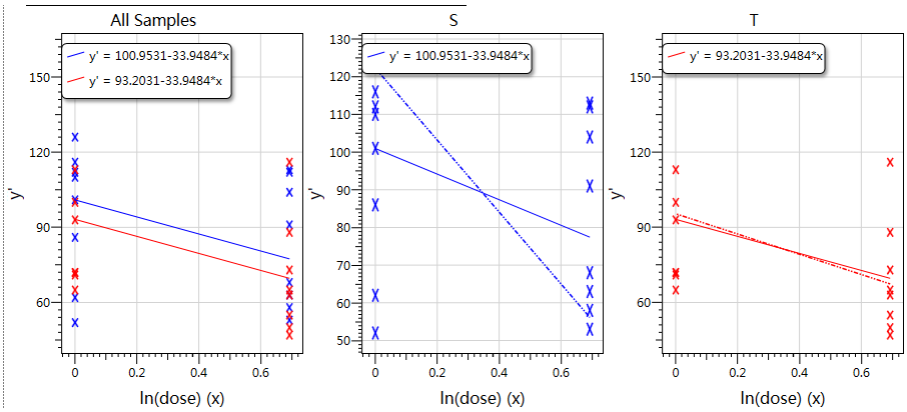
可靠性分析结论
试品间无显著差异。 回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非平行无显著性差异，可认为多组直线平行。 次间×试品间无显著差异，可认为次间与试品间无交互作用。 次间×回归无显著差异，可认为次间不影响变量间的直线关系，回归有效。 次间×非平行无显著差异，可认为次间不影响两组变量间直线的平行关系，回归有效。
试验结论有效，可靠。

③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	33.4162	40.1106	48.1646
相对标示效价变化率	83.54%	100.28%	120.41%
相对估计效价变化率	83.31%	100.00%	120.08%
标准误(Sm)	0.0387546477		
可信限率	18.38%		

④ 模型在 $y' - \ln(\text{dose})$ 坐标系下的回归直线图及回归函数

横轴表示剂量的对即 ln(dose)，左侧为低浓度，右侧为高浓度。纵轴为响应值。“×”表示为单独处理中的响应值。两条线分别表示标准组与试验组在 y-ln(dose) 下的回归直线.



6.3 斜率比模型

6.3.1 斜率比完全随机设计——流感疫苗的体外测定试验

㈠ 药物实例背景及数据

以下实验及数据来自于欧洲药典（EP）Example 5.2.2 。本软件程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.2.2 斜率比 0.4.4.4 完全随机设计（流感疫苗体外法）(A.1.7)**。

实验描述：流感疫苗的血凝素抗原（HA）通过单向免疫扩散检测法测定。两个待测疫苗的标示效价都为每剂量 15 μg HA，等价于 30 μg HA/mL。标准品

的指定效价为 39 μg HA/mL。标准和待测疫苗都根据指定和标示含量制备制备 4 个相同的稀释浓度（7.5、15.0、22.5 和 30.0 ug HA/ml）。当内外反应物达到平衡时，测定环形沉淀区域的面积（mm^2）；试验的结果数据如下表所示：

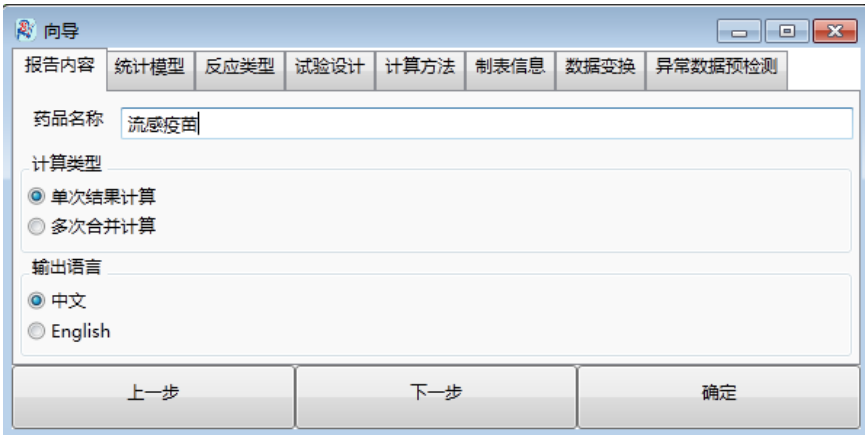
Conc.	Standard *S*		Preparation *T*		Preparation *U*	
(μg/mL)	I	II	I	II	I	II
7.5	18.0	18.0	15.1	16.8	15.4	15.7
15.0	22.8	24.5	23.1	24.2	20.2	18.6
22.5	30.4	30.4	28.9	27.4	24.2	23.1
30.0	35.7	36.6	34.4	37.8	27.4	27.0

下面运用生物检定统计软件进行斜率比模型分析：

㈡ 创建向导

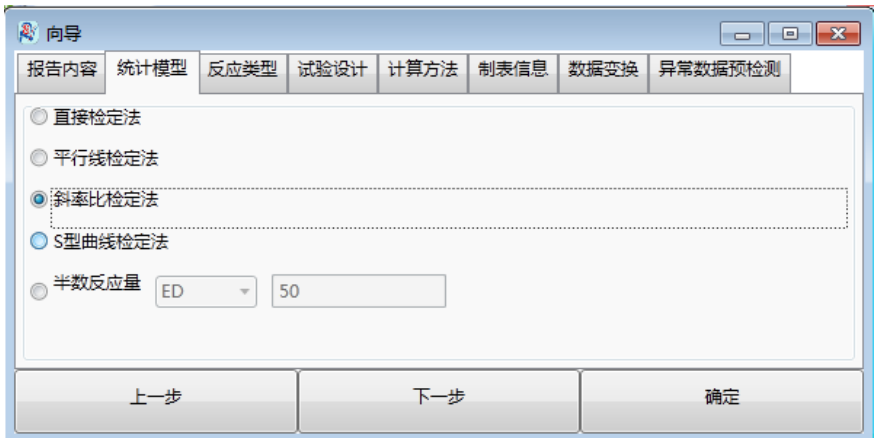
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为流感疫苗的体外测定试验，所以在药品名称处填写流感疫苗，计算类型为单次结果计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



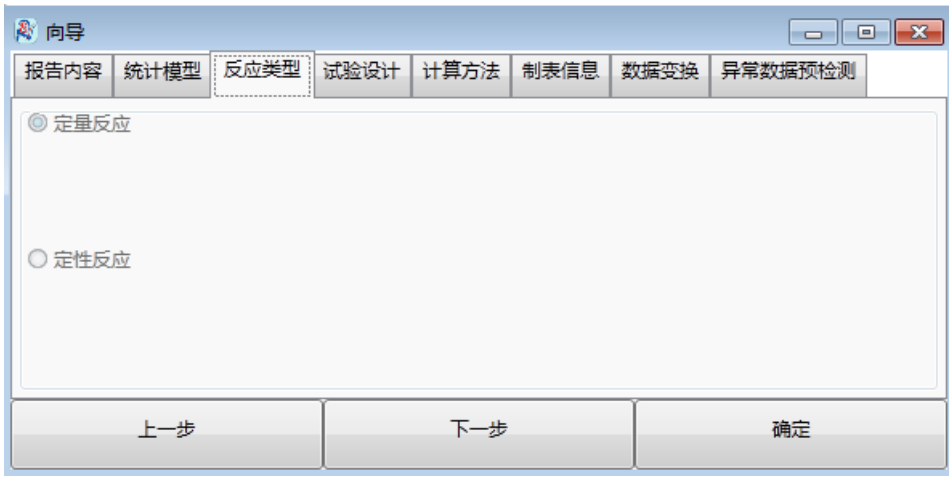
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择斜率比检定法。



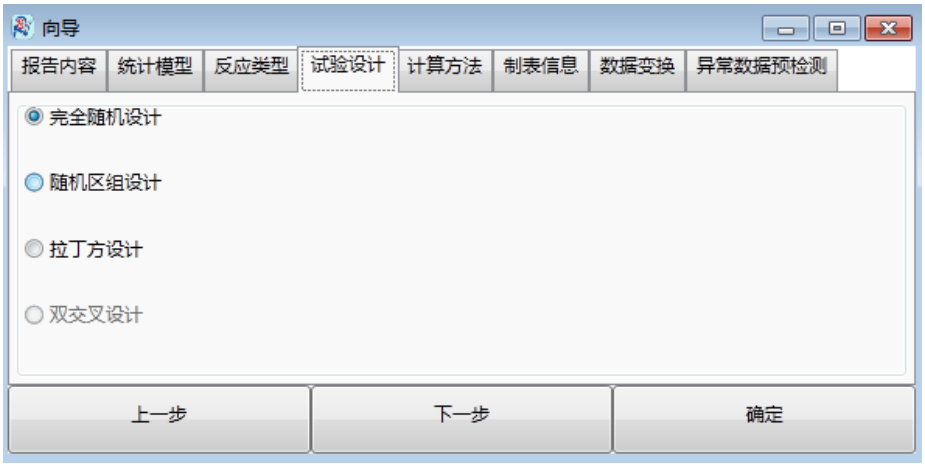
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于斜率比检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



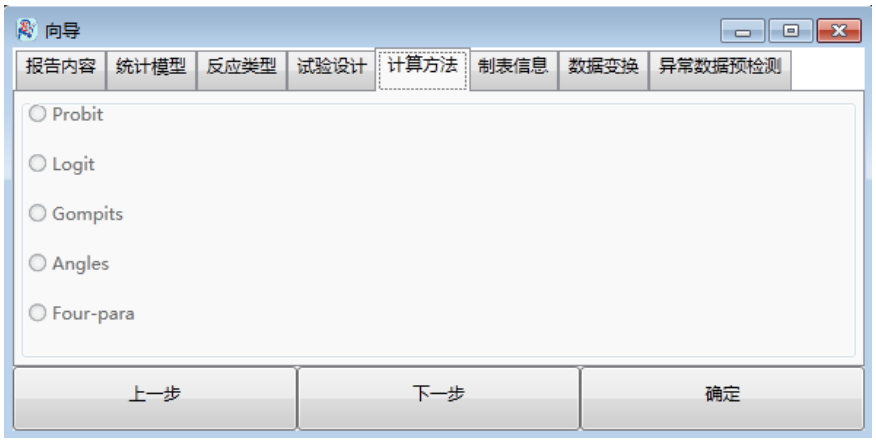
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



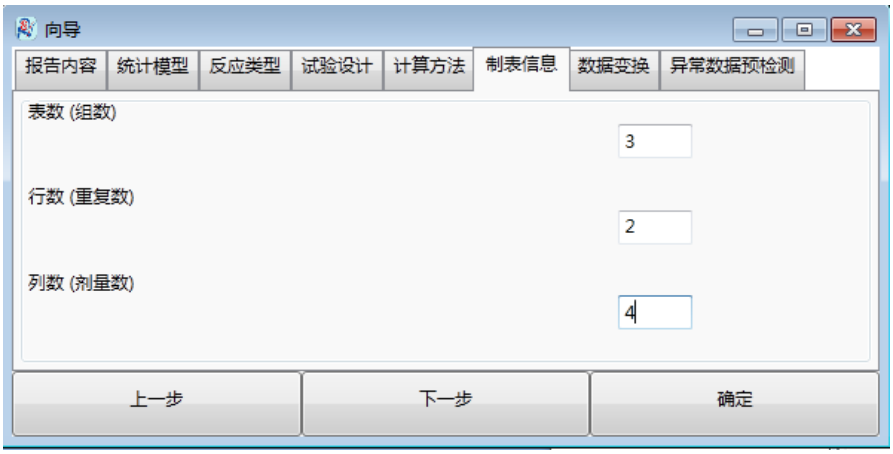
⑤ 计算模型选项

单击下一步，进入计算模型选项如下图所示，由于斜率比检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



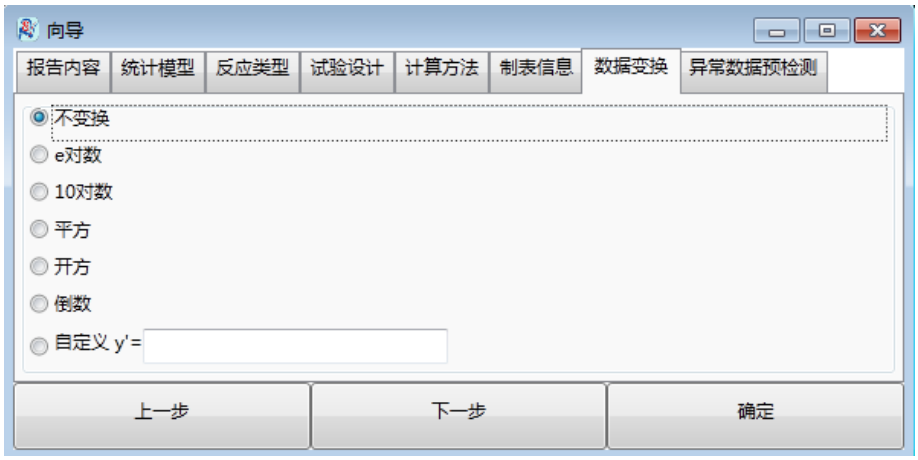
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。



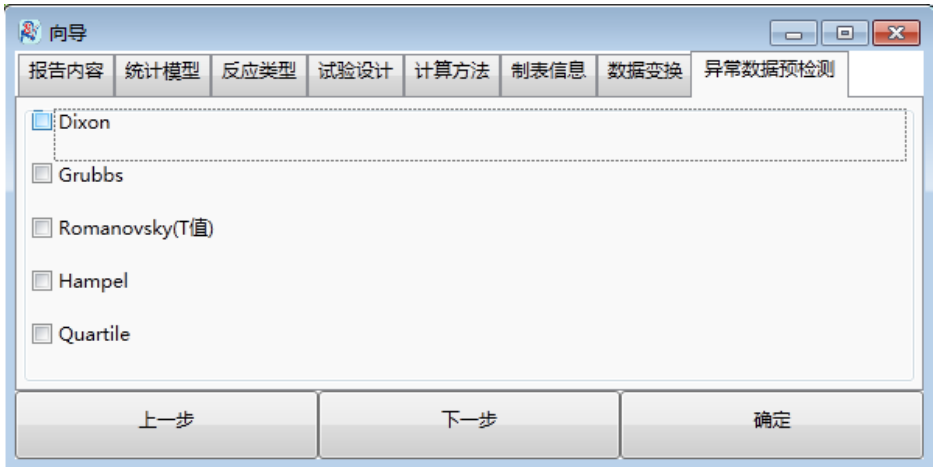
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格中输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，稀释倍数若空白不填，则软件默认无稀释。剂量（dose）后面各列为不同的剂量（如 7.5, 15.0, 22.5, 30.0），剂量数值下方为该剂量下重复试验的数据。表格输入完成后如下表所示：

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:46:38

药品名称	流感疫苗
统计模型	斜率比检定法
试验设计	完全随机
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)	39			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	18	22.8	30.4	35.7
(2)	18	24.5	30.4	36.6

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)	15			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	15.1	23.1	28.9	34.4
(2)	16.8	24.2	27.4	37.8

原始数据表--样品组2				
组别	U			
标示效价(A)	15			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	15.4	20.2	24.2	27.4
(2)	15.7	18.6	23.1	27

注意：由于没有稀释倍数，dose 单位与效价单位相同。

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
回归	3	1087.66519	362.55506	339.49752	0.00000 (***)
相交性	2	3.47389	1.73694	1.62648	0.23712
非线性	6	5.06550	0.84425	0.79056	0.59432
标准组	2	0.44600	0.22300	0.20882	0.81443
样品组1	2	4.45350	2.22675	2.08513	0.16703
样品组2	2	0.16600	0.08300	0.07772	0.92568
剂间	11	1096.20458	99.65496	93.31717	0.00000 (***)
残差	12	12.81500	1.06792		
总和	23	1109.01958	48.21824		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；非线性所对应的各 P 值均大于 0.05，表明该模型的变量间均呈直线关系；剂间对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明剂间有差异，试验是合理的。

② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 相交性无显著性差异，可认为标准组与样品组在零剂量处效应相同。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。 标准组无显著差异，可认为变量间呈直线关系。 样品组1无显著差异，可认为变量间呈直线关系。 样品组2无显著差异，可认为变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

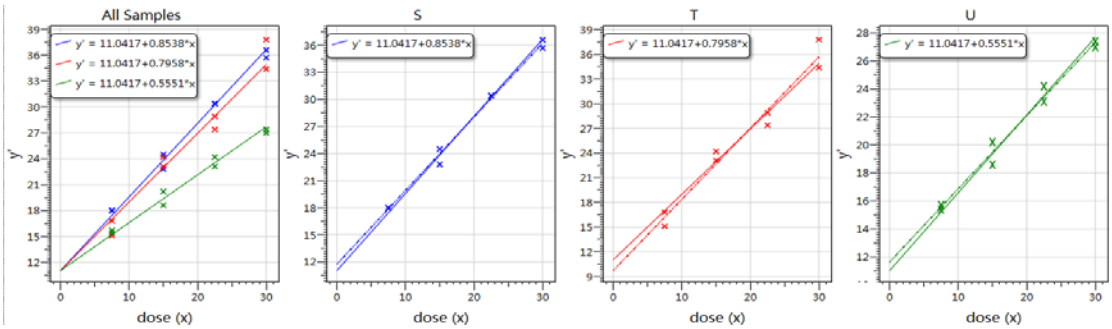
③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	13.3681	14.2920	15.2711
相对标示效价变化率	89.12%	95.28%	101.81%
相对估计效价变化率	93.54%	100.00%	106.85%
标准误(Sm)	0.0126437204		
可信限率	6.66%		

试验组			
组别	U		
	下限	估计值	上限
效价	8.8542	9.7295	10.6088
相对标示效价变化率	59.03%	64.86%	70.73%
相对估计效价变化率	91.00%	100.00%	109.04%
标准误(Sm)	0.0116580806		
可信限率	9.02%		

④ 模型在 $y'-\text{dose}$ 坐标系下的回归直线图及回归函数

横坐标由左至右代表剂量浓度由 0 至最大。纵坐标代表响应值。每一处置的个体响应值由图中“×”点代表。图中显示的是假定相交于零剂量时（即满足斜率比模型）三条拟合直线计算所得到的标准组和试验组的剂量反应关系。与平行线模型不同，斜率比模型下剂量没有被转化为对数形式。



6.3.2 斜率比随机区组设计——流感疫苗的体外测定试验

㈠ 药物实例背景及数据

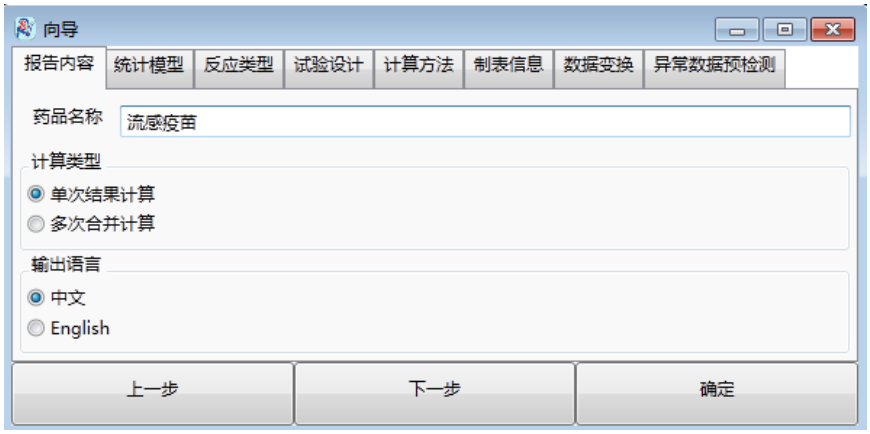
以下实验及数据来自于欧洲药典（EP）Example 5.2.2 。本软件将结合该背景及数据改用斜率比随机区组设计进行生物检定统计分析，程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.2.2 斜率比 0.4.4.4 完全随机设计（流感疫苗体外法）(A.1.7)**。

实验描述同 6.3.1。

㈡ 创建向导

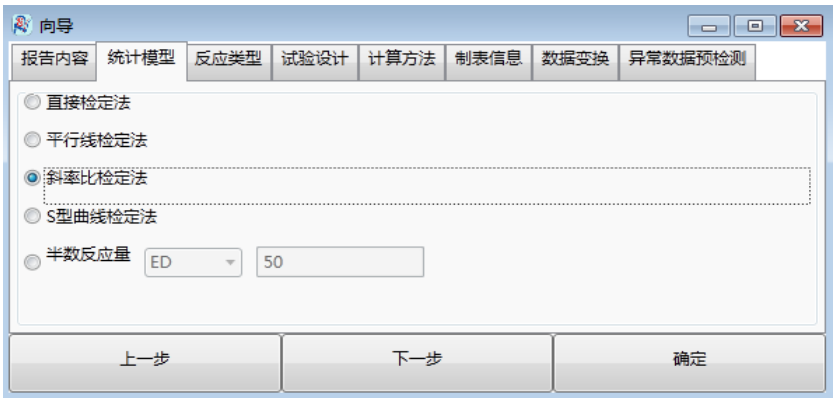
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为流感疫苗的体外测定试验，所以在药品名称处填写流感疫苗，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



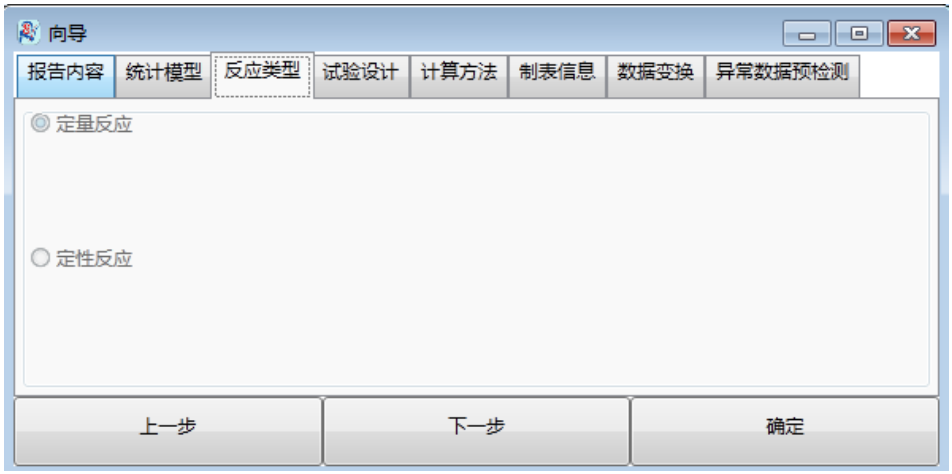
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择斜率比检定法。



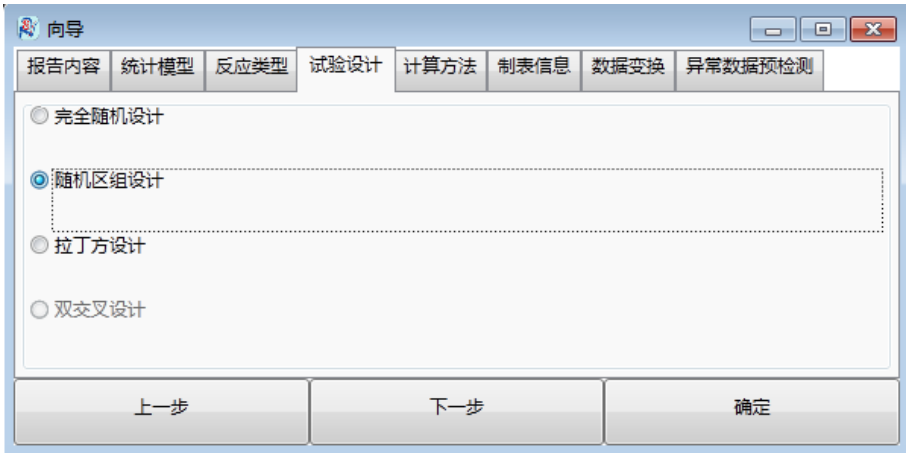
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于斜率比检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



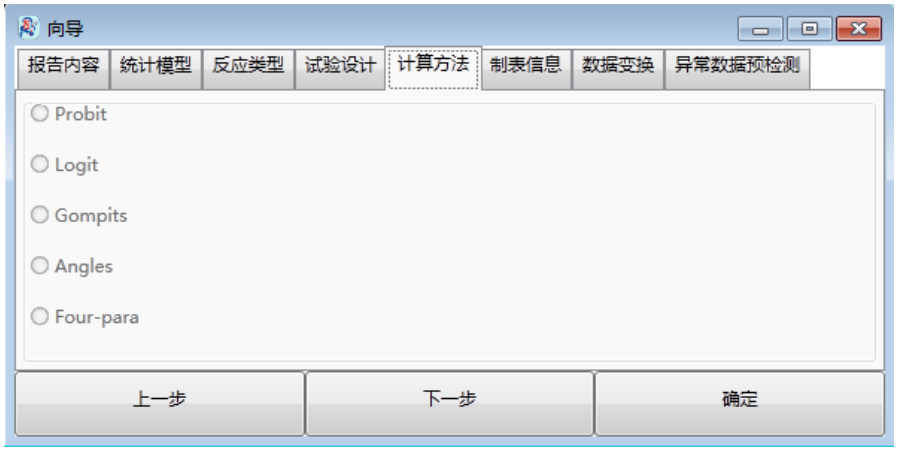
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



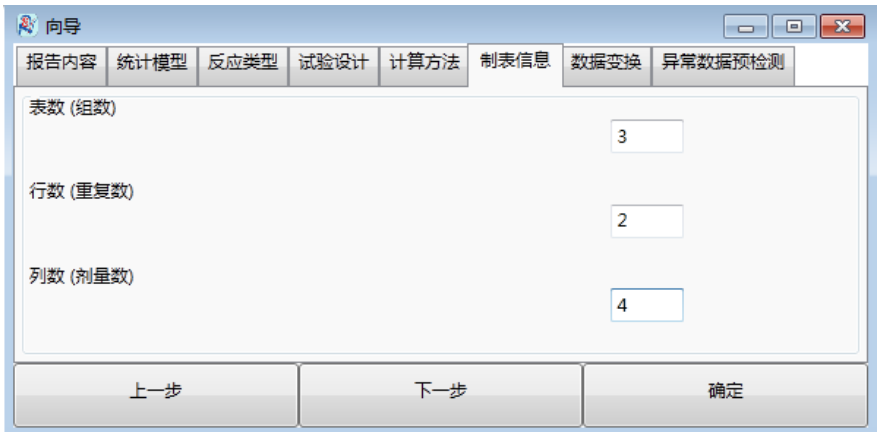
⑤ 计算模型选项

单击下一步，进入计算模型选项如下图所示，由于斜率比检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



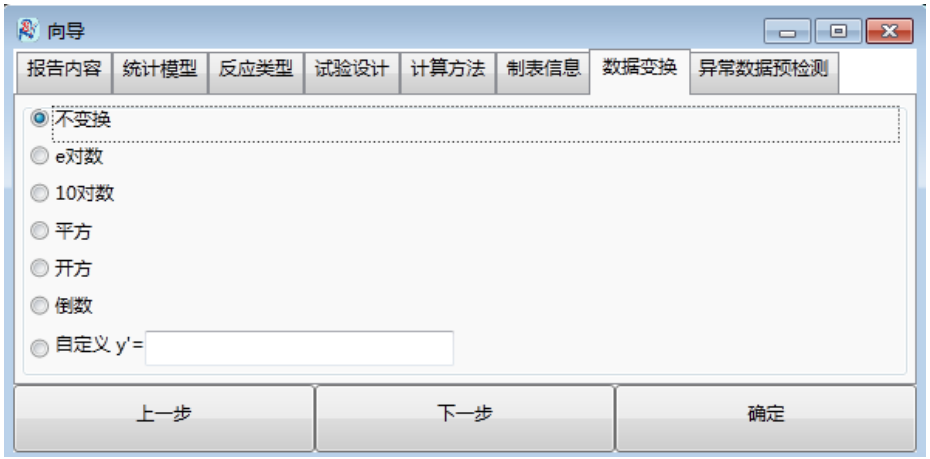
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。



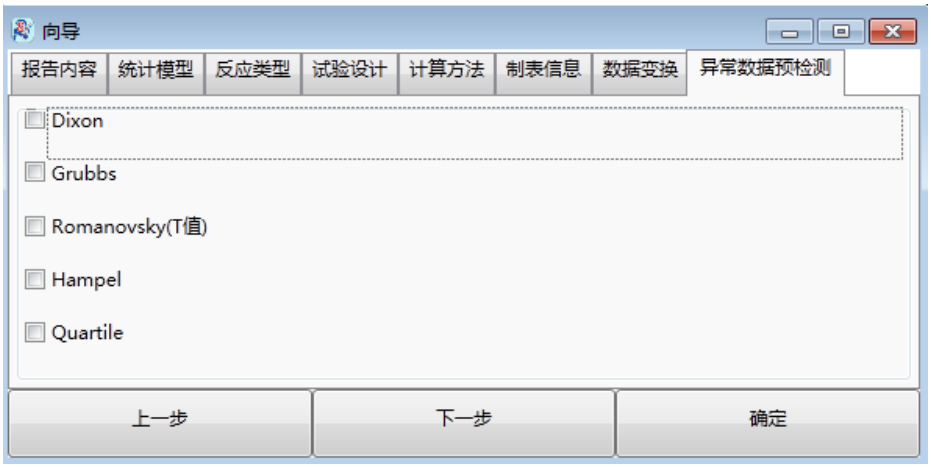
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



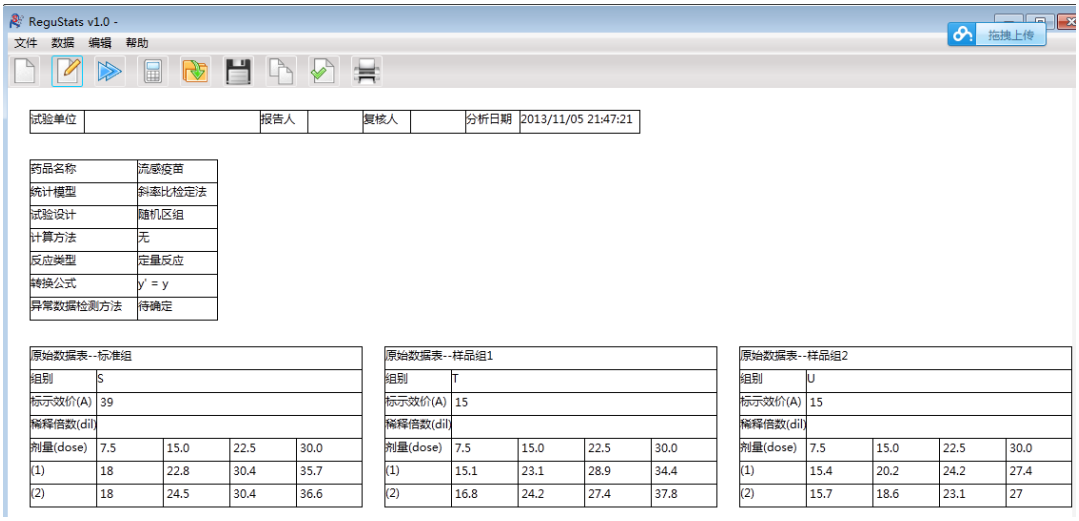
⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格中输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，假定效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，稀释倍数若空白不填，则系统默认无稀释。剂量（dose）后面各列为不同的剂量（如 7.5, 15.0, 22.5, 30.0），剂量数值下方为该剂量下重复试验的数据。表格输入完成后如下表所示：



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:47:21

药品名称	流感疫苗
统计模型	斜率比检定法
试验设计	随机区组
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)	39			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	18	22.8	30.4	35.7
(2)	18	24.5	30.4	36.6

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)	15			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	15.1	23.1	28.9	34.4
(2)	16.8	24.2	27.4	37.8

原始数据表--样品组2				
组别	U			
标示效价(A)	15			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5	30.0
(1)	15.4	20.2	24.2	27.4
(2)	15.7	18.6	23.1	27

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
回归	3	1087.66519	362.55506	333.14029	0.00000 (***)
相交性	2	3.47389	1.73694	1.59602	0.24627
非线性	6	5.06550	0.84425	0.77575	0.60533
标准组	2	0.44600	0.22300	0.20491	0.81776
样品组1	2	4.45350	2.22675	2.04609	0.17560
样品组2	2	0.16600	0.08300	0.07627	0.92706
剂间	11	1096.20458	99.65496	91.56977	0.00000 (***)
区组间	1	0.84375	0.84375	0.77529	0.39741
残差	11	11.97125	1.08830		
总和	23	1109.01958	48.21824		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；非线性所对应的各 P 值均大于 0.05，表明该模型的变量间均呈直线关系；剂间对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明剂间有差异，试验是合理的。

② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 相交性无显著性差异，可认为标准组与样品组在零剂量处效应相同。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。 标准组无显著差异，可认为变量间呈直线关系。 样品组1无显著差异，可认为变量间呈直线关系。 样品组2无显著差异，可认为变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

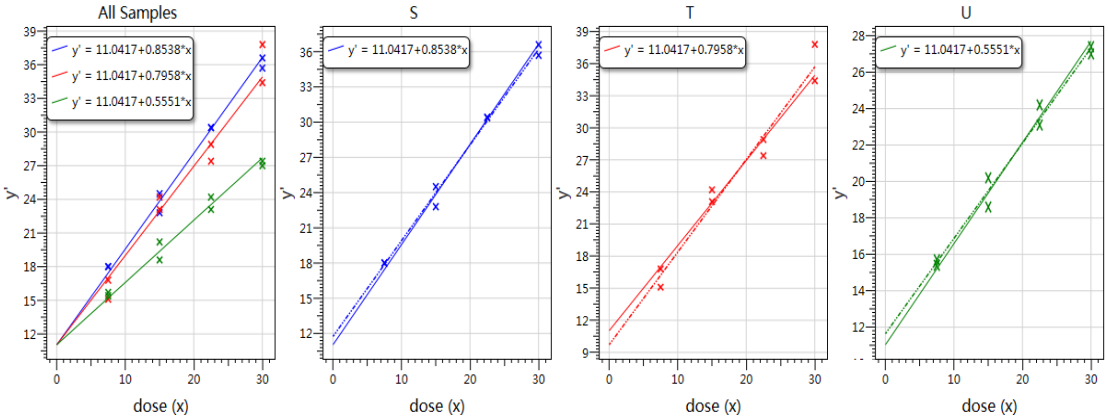
③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	13.3503	14.2920	15.2911
相对标示效价变化率	89.00%	95.28%	101.94%
相对估计效价变化率	93.41%	100.00%	106.99%
标准误(Sm)	0.0127654335		
可信限率	6.79%		

试验组			
组别	U		
	下限	估计值	上限
效价	8.8368	9.7295	10.6263
相对标示效价变化率	58.91%	64.86%	70.84%
相对估计效价变化率	90.82%	100.00%	109.22%
标准误(Sm)	0.0117701083		
可信限率	9.20%		

④ 模型在 $y'-\text{dose}$ 坐标系下的回归直线图及回归函数

横坐标由左至右代表剂量浓度由 0 至最大。纵坐标代表响应值。每一处置的个体响应值由图中“×”点代表。图中显示的是假定相交于零剂量时（即满足斜率比模型）三条拟合直线计算所得到的标准组和试验组的剂量反应关系，图中实线表示的是校正后的回归直线，虚线表示的是未经校正的回归直线。与平行线模型不同，斜率比模型下横轴剂量没有被转化为对数形式。



6.3.3 斜率比拉丁方设计——流感疫苗的体外测定试验

㈠ 药物实例背景及数据

以下实验及数据来自于欧洲药典（EP）Example 5.2.2。本软件将结合该实验及数据改用斜率比拉丁方设计进行生物检定统计分析，程序详见程序**斜率比拉丁方设计（流感疫苗体外法）**。

测试疫苗有每剂量 15 μg HA 的标示效价。标准的指定含量为 39 μg HA/mL。标准和测试疫苗应用于 4 个重复浓度，根据指定和标示含量制备。当达到内外反应物平衡，测定环形区域面积。该测定的试验数据如下图所示：

Standard S			Preparation T		
7.5μg HA	*15μg HA*	*22.5μg HA*	*7.5μg HA*	*15μg HA*	***22.5μg HA***
18	22.8	30.4	15.1	23.1	28.9
18	24.5	30.4	16.8	24.2	27.4.
17.5	23.2	30.5	27.9	23.1	28.9

21.2	24.2	31.0	16.8	24.2	27.4.
26.6	25.0	30.1	23.2	23.1	28.9
18.4	24.1	30.0	16.8	24.2	27.4.

此例所用的6×6拉丁表为：

表　6×6拉丁表

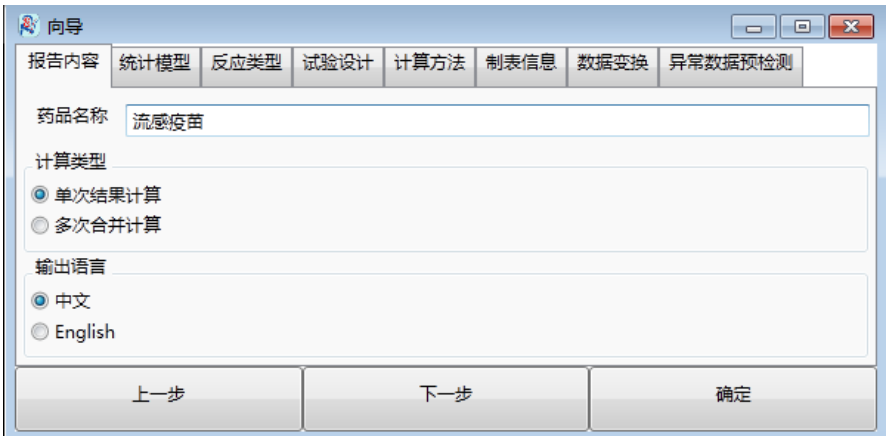
1	4	5	3	2	6
4	6	1	2	5	3
5	3	2	1	6	4
3	2	6	4	1	5
2	5	3	6	4	1
6	1	4	5	3	2

㈡ 软件操作步骤

创建向导:

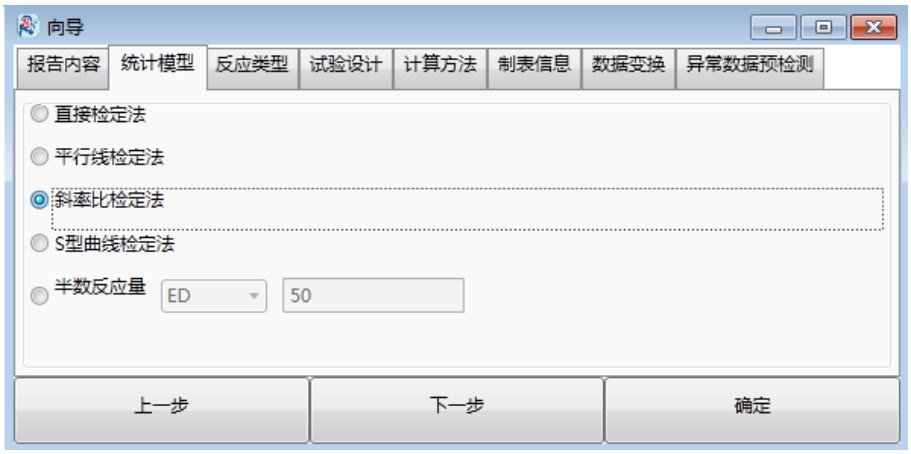
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为流感疫苗的体外测定试验，所以在药品名称处填写流感疫苗，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



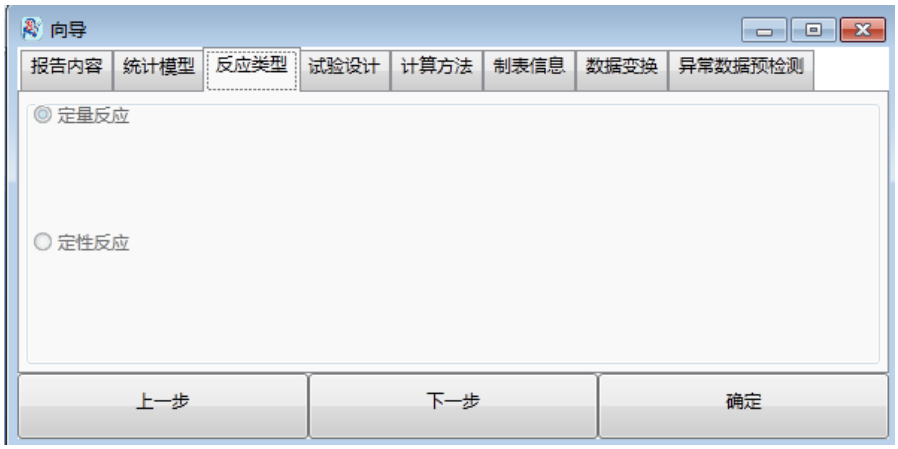
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择斜率比检定法。



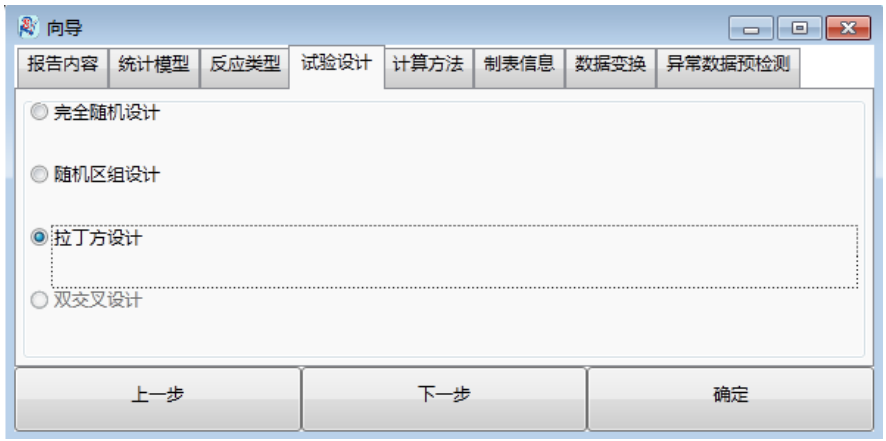
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于斜率比检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示。



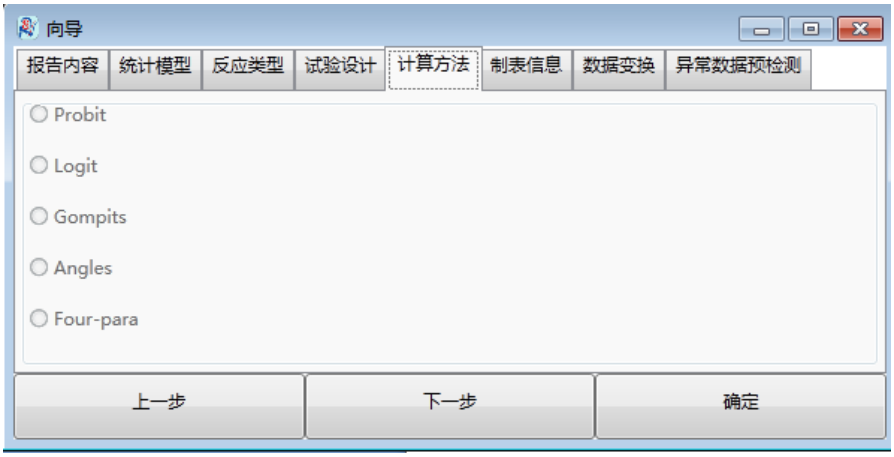
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



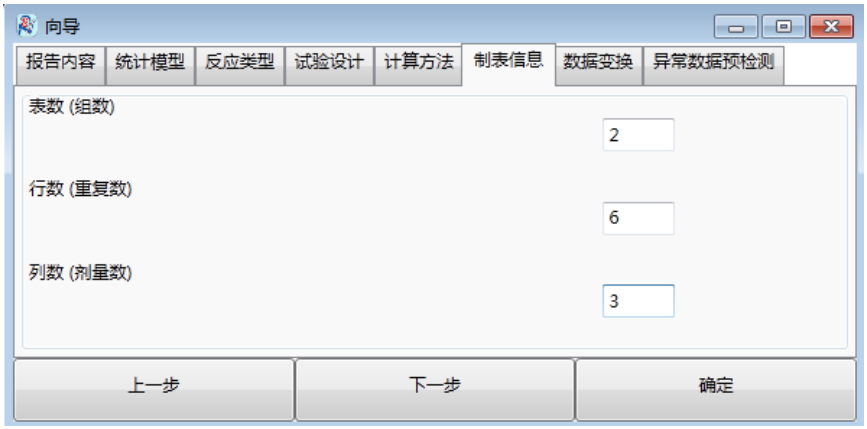
⑤ 计算模型选项

单击下一步，进入计算模型选项如下图所示，由于斜率比检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



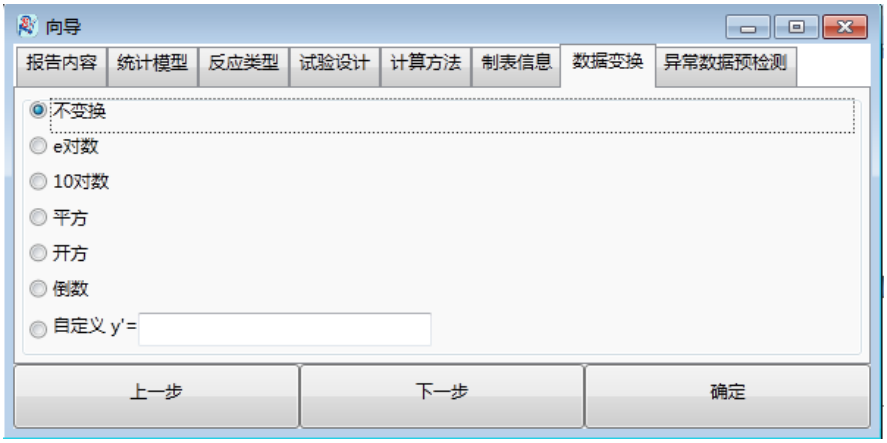
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。



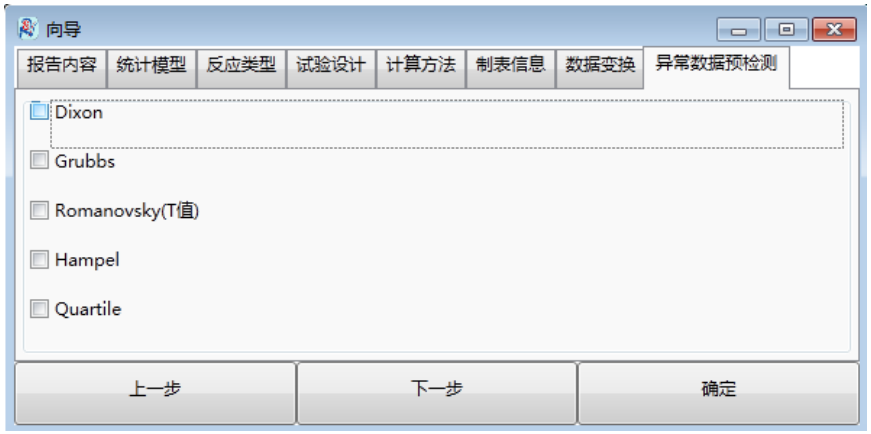
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



数据输入:

拉丁方表的输入按照本例选定的6×6拉丁表数据输入，如下表所示：

拉丁方设计数据转换表 (标准表->试验表)					
1	4	5	3	2	6
4	6	1	2	5	3
5	3	2	1	6	4
3	2	6	4	1	5
2	5	3	6	4	1
6	1	4	5	3	2

输入 S 组和 T 组数据如下表所示：

原始数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	39		
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5
(1)	18	22.8	30.4
(2)	18	24.5	30.4
(3)	17.5	23.2	30.5
(4)	21.2	24.2	31
(5)	26.6	25	30.1
(6)	18.4	24.1	30

原始数据表--样品组1			
组别	T		
标示效价(A)	15		
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5
(1)	15.1	23.1	28.9
(2)	16.8	24.2	27.4
(3)	27.9	23.1	28.9
(4)	16.8	24.2	27.4
(5)	23.2	23.1	28.9
(6)	16.8	24.2	27.4

注意：由于无稀释倍数，dose 单位与效价单位相同

运行结果:

① 转换之后的数据 S' 组和 T' 组

拉丁方数据表--标准组			
组别	S		
标示效价(A)	39		
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5
(1)	18.0000	15.1000	23.1000
(2)	16.8000	27.4000	18.0000
(3)	23.1000	30.5000	23.2000
(4)	31.0000	24.2000	27.4000
(5)	25.0000	23.1000	30.1000
(6)	27.4000	18.4000	16.8000

拉丁方数据表--样品组1			
组别	T		
标示效价(A)	15		
稀释倍数(dil)			
剂量(dose)	7.5	15.0	22.5
(1)	30.4000	22.8000	28.9000
(2)	24.5000	24.2000	30.4000
(3)	17.5000	28.9000	27.9000
(4)	16.8000	21.2000	24.2000
(5)	28.9000	23.2000	26.6000
(6)	24.2000	30.0000	24.1000

② 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
回归	2	564.41524	282.20762	66.94788	0.00000 (***)
相交性	1	0.64004	0.64004	0.15184	0.70091
非线性	2	5.92056	2.96028	0.70226	0.50727
标准组	1	5.84028	5.84028	1.38548	0.25299
样品组1	1	0.08028	0.08028	0.01904	0.89162
剂间	5	570.97583	114.19517	27.09042	0.00000 (***)
行间	5	42.07250	8.41450	1.99616	0.12311
列间	5	70.05250	14.01050	3.32370	0.02401 (*)
残差	20	84.30667	4.21533		
总和	35	767.40750	21.92593		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们在方差分析中主要看 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.01$，说明该模型回归是高度显著的；相

交性对应的 $P=0.70091>0.05$，说明相交性无显著性差异，可以认为标准组和试验组在零剂量处效应相同；非线性对应的 P 值均大于 0.05，说明变量间呈直线关系。

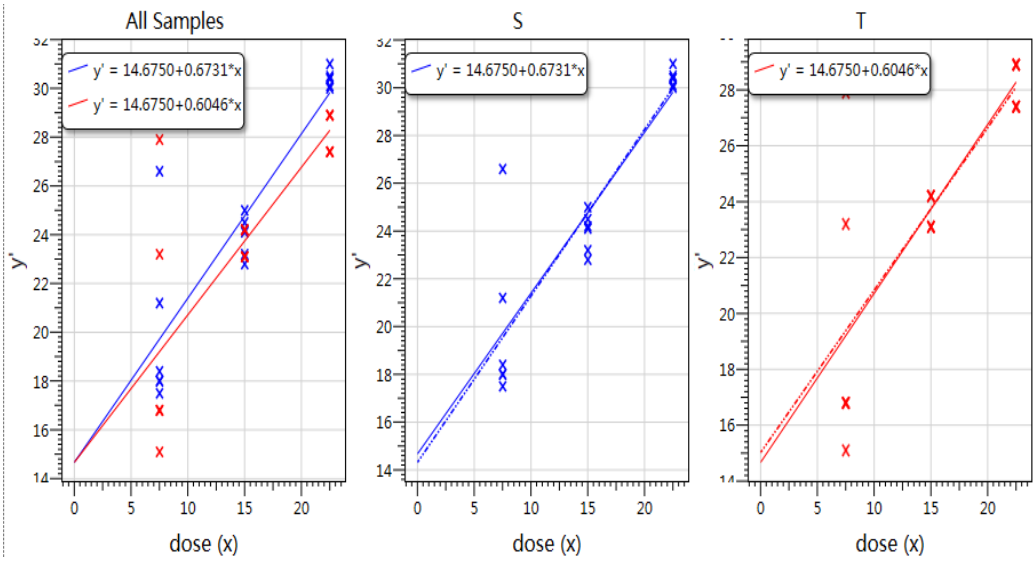
③ 系统可靠性结论分析表

可靠性分析结论
回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 相交性无显著性差异，可认为标准组与样品组在零剂量处效应相同。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。 标准组无显著差异，可认为变量间呈直线关系。 样品组1无显著差异，可认为变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

④试验组效价估计表

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	11.5037	13.3318	15.3061
相对标示效价变化率	76.69%	88.88%	102.04%
相对估计效价变化率	86.29%	100.00%	114.81%
标准误(Sm)	0.0263886786		
可信限率	14.26%		

⑤ $y'-\text{dose}$ 坐标系下的各组回归直线拟合图及回归函数



6.4 S 型曲线模型——白喉疫苗的测定试验

本节仅以S型曲线Probit分析为例展开介绍，关于S型曲线的Logit、Gompits、Angles 分析与该节的程序运行步骤类似。

㈠ 药物实例背景及数据

以下数据来自于欧洲药典 Example 5.3.1。本软件将在该实验及数据下用 S 型曲线完全随机设计的 Probit 分析进行生物检定统计，程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.3.1 质反应资料的 Probit 法（白喉疫苗体内法）(A.1.8)**。

实验描述：待测白喉疫苗的估计效价为 140 IU/vial，白喉疫苗标准制剂的标示效价为 132 IU/vial。在此基础上，将等剂量的配制溶液随机给予各组豚鼠，经一定反应时间后，给予每只动物白喉毒素进行挑战，记录每组动物的生存数目，该测定的试验数据如下表所示：

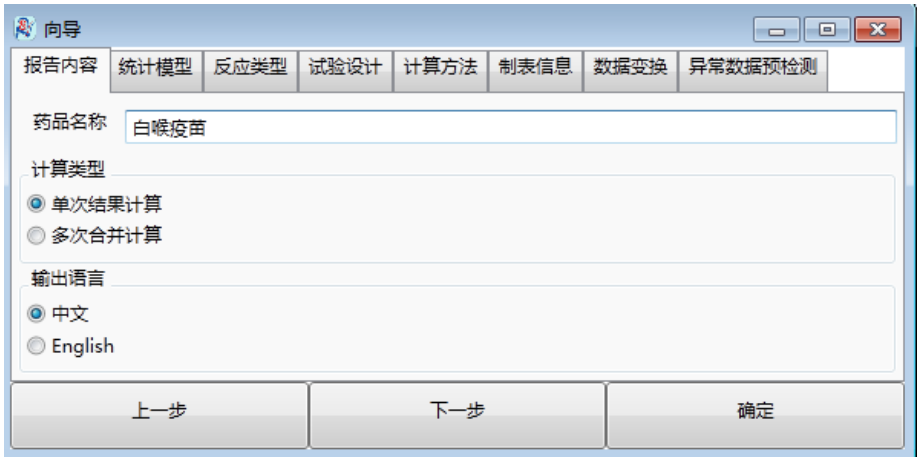
Standard (*S*) Assigned potency 132 IU/vial			Test preparation (*T*) Assumed potency 140 IU/vial		
dose (IU/mL)	chal-lenged	protected	dose (I.U./mL)	chal-lenged	protected
1.0	12	0	1.0	11	0
1.6	12	3	1.6	12	4
2.5	12	6	2.5	11	8
4.0	11	10	4.0	11	10

下面运用生物检定统计软件进行 S 型曲线的 Probit 模型分析：

㈡ 创建向导

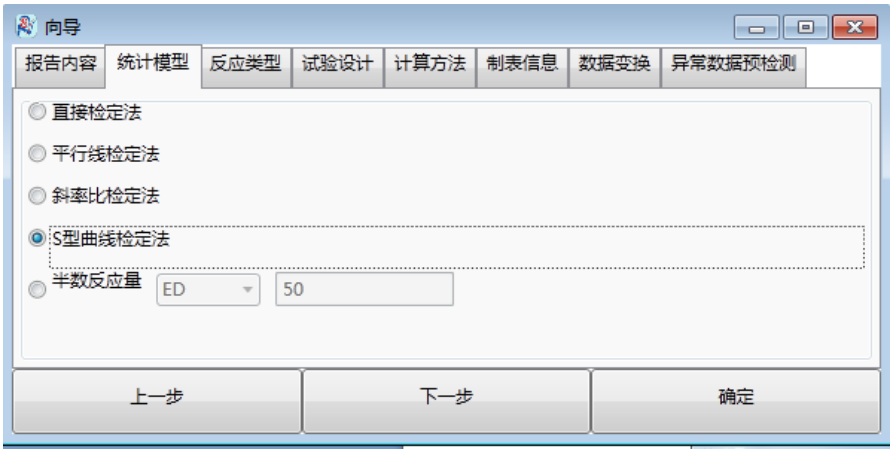
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为白喉疫苗的体外测定试验，所以在药品名称处填写白喉疫苗，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



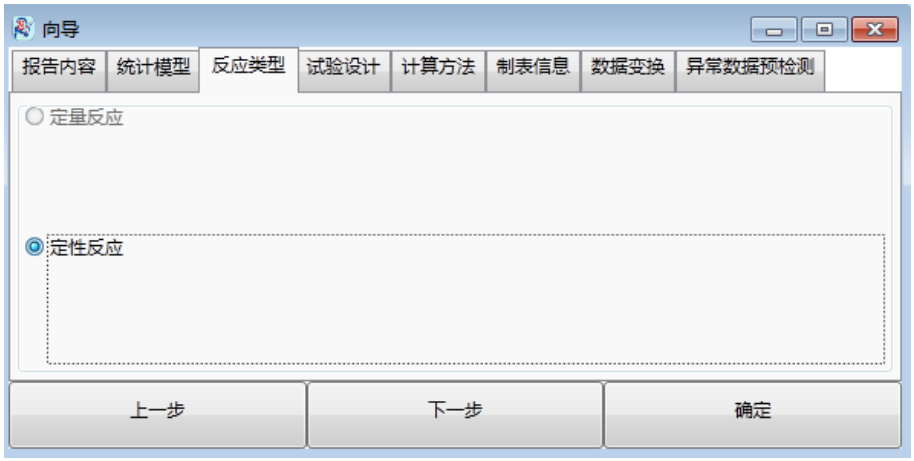
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择 S 型曲线检定法。



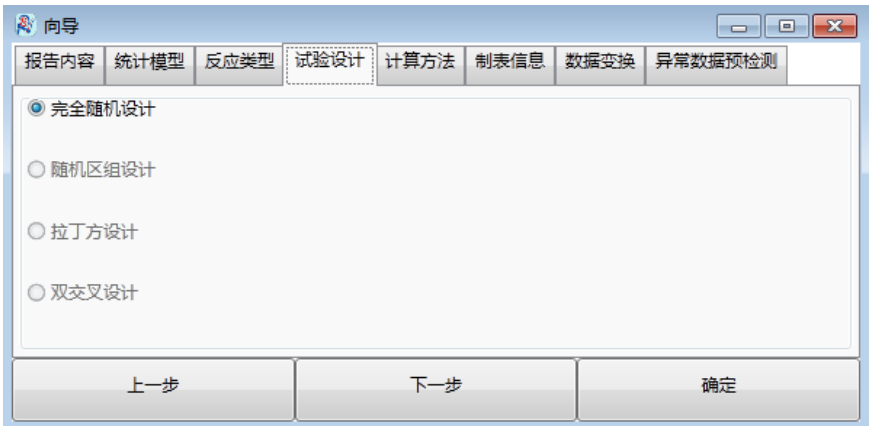
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于数据为观察到的小鼠的生存数目，所以这里选择定性反应，如下图所示：



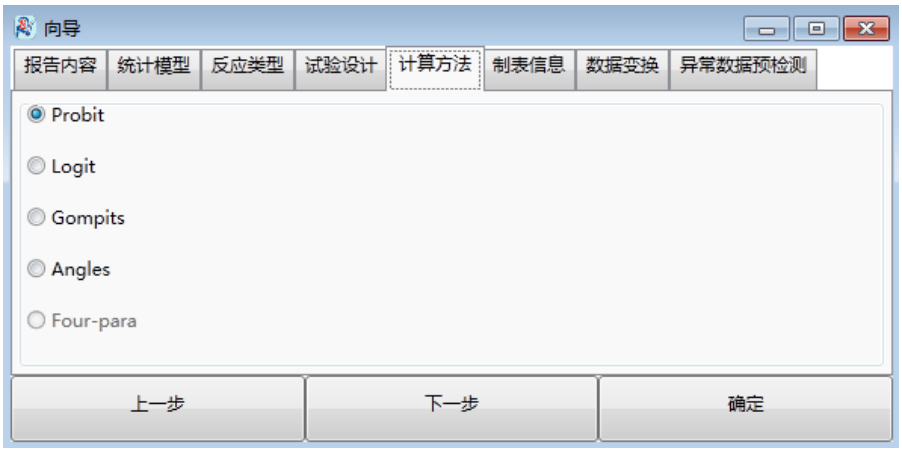
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，S 型曲线检定方法默认检定设计为完全随机设计。



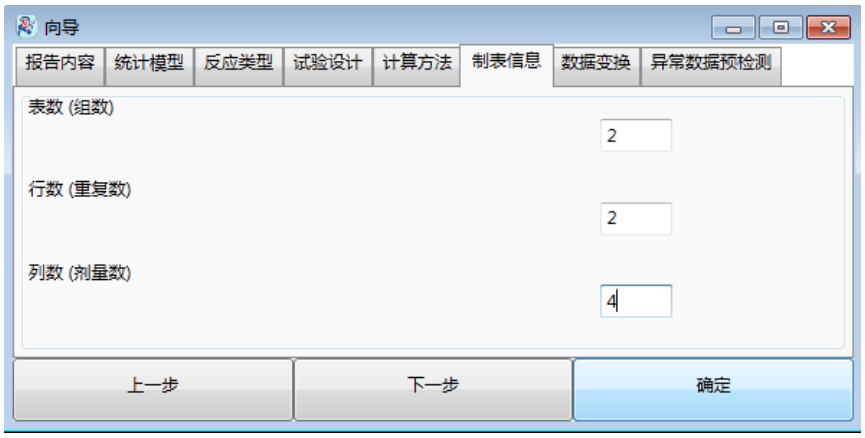
⑤ 计算模型选项

单击下一步，进入计算模型选项如下图所示，在该例中选择 Probit 计算方法（在该步选择其他计算法的程序运行步骤和 Probit 方法是类似的）。



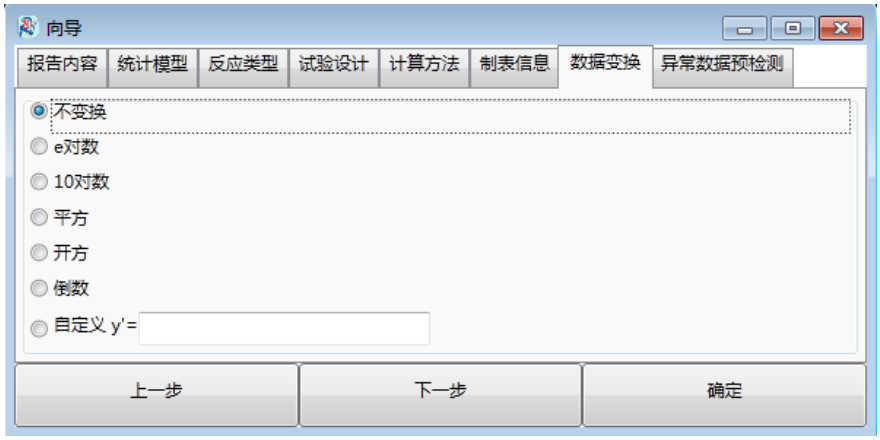
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（S 型曲线的定性反应表格均为两行，第一行为该剂量下的受试个体总数，第二行为试验后的生存总数）和列数（试验的剂量数）。



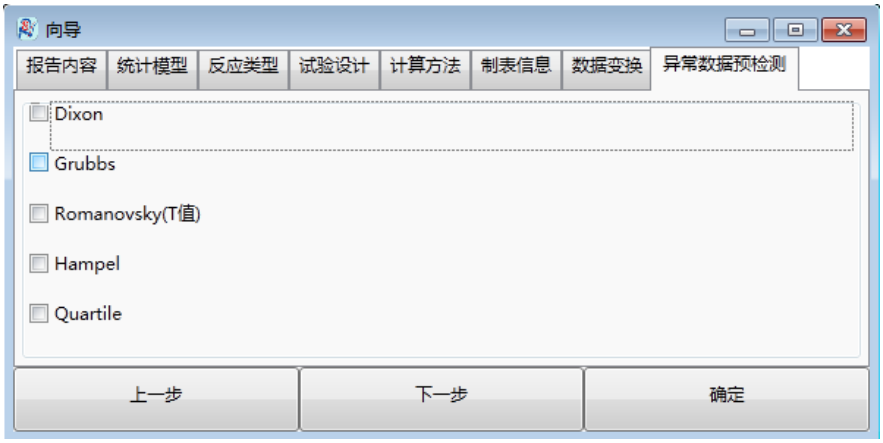
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格中输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，稀释倍数若空白不填，则软件默认无稀释。剂量（dose）后面各列为不同的剂量（如 1.0, 1.6, 2.5,4.0），剂量数值下方为该剂量下受试个体总数和生存总数。表格输入完成后如下表所示：

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:48:04

药品名称	白喉疫苗
统计模型	S型曲检定法
试验设计	完全随机
计算方法	Probit
反应类型	定性反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--标准组				
组别	S			
标示效价(A)	132			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	1.0	1.6	2.5	4.0
(1)	12	12	12	11
(2)	0	3	6	10

原始数据表--样品组1				
组别	T			
标示效价(A)	140			
稀释倍数(dil)				
剂量(dose)	1.0	1.6	2.5	4.0
(1)	11	12	11	11
(2)	0	4	8	10

注意：由于无稀释倍数，dose 单位与效价单位相同。

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结

果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	卡方	P
试品间	1	0.06627	0.06627	0.06627	0.79685
回归	1	33.97508	33.97508	33.97508	0.00000 (***)
非平行	1	0.00104	0.00104	0.00104	0.97429
非线性	4	1.92149	0.48037	1.92149	0.75020
标准组	2	0.85130	0.42565	0.85130	0.65335
样品组1	2	1.07020	0.53510	1.07020	0.58561
剂间	7	35.96388	5.13770	35.96388	0.00001 (***)
理论误差			1.000		
总和	7	35.96388	5.13770		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；剂间对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明剂间有差异，试验是合理的。

② 系统可靠性分析结论

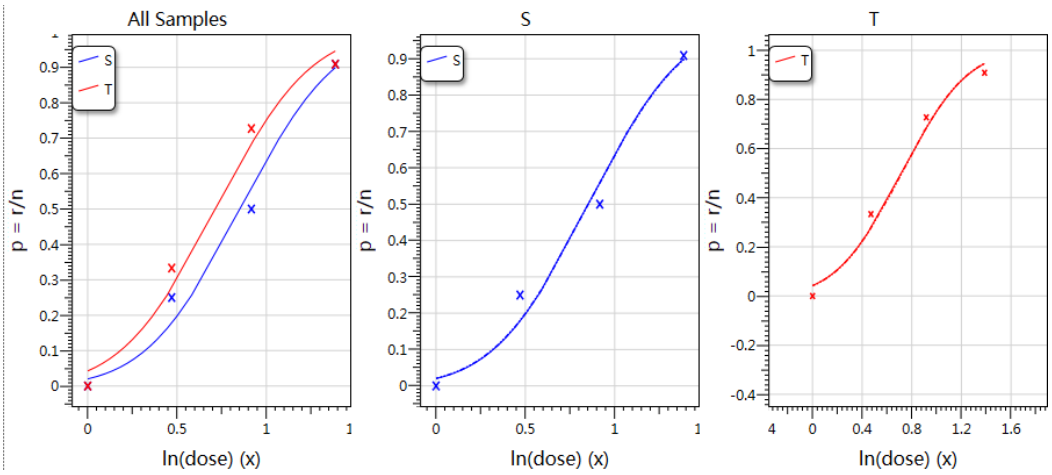
可靠性分析结论
试品间无显著差异。 回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非平行无显著性差异，可认为多组直线平行。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	120.9653	160.5974	215.1572
相对标示效价变化率	86.40%	114.71%	153.68%
相对估计效价变化率	75.32%	100.00%	133.97%
标准误(Sm)	0.0637998146		
可信限率	29.33%		

④ 模型在 $p(\frac{r}{n})-\ln(\text{dose})$ 坐标系下的回归直线图及回归函数

横坐标由左至右代表剂量浓度由 0 至最大。纵坐标代表响应值。每一处置的个体响应值由图中“×”点代表。



6.5 半数反应量模型

6.5.1 ED50 模型 Probit 设计——口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定

㈠ 药物实例背景及数据

以下实验及数据来自于欧洲药典（EP）Example 5.3.3。本软件程序详见程序 **EP7.0 Examples 5.3.3 半数反应量的 Probit 计算（bliss）法（口服脊髓灰质炎疫苗体外法）(A.3.22)**。

实验描述：用 10 个不同的稀释浓度（-3.5、-4.0、-4.5、-5.0、-5.5、-6.0、-6.5、-7.0、-7.5、-8.0 log）测定口服脊髓灰质炎疫苗的 ED50。在 ELISA 板上每个浓度进行 8 次重复，每孔加 50 μL 疫苗稀释液。原始结果（表中第一行的浓度为 10^x ul 疫苗原液）如下表所示：

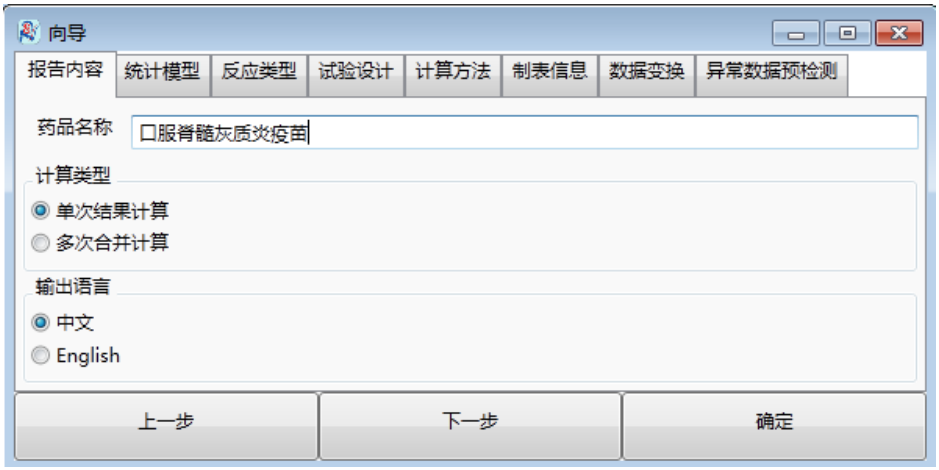
−3.5	−4.0	−4.5	−5.0	−5.5	−6.0	−6.5	−7.0	−7.5	−8.0
+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
+	+	+	+	+	−	+	−	−	−
+	+	+	+	−	+	−	−	−	−

下面运用生物检定统计软件进行 ED50 模型 Probit 分析：

㈡ 创建向导

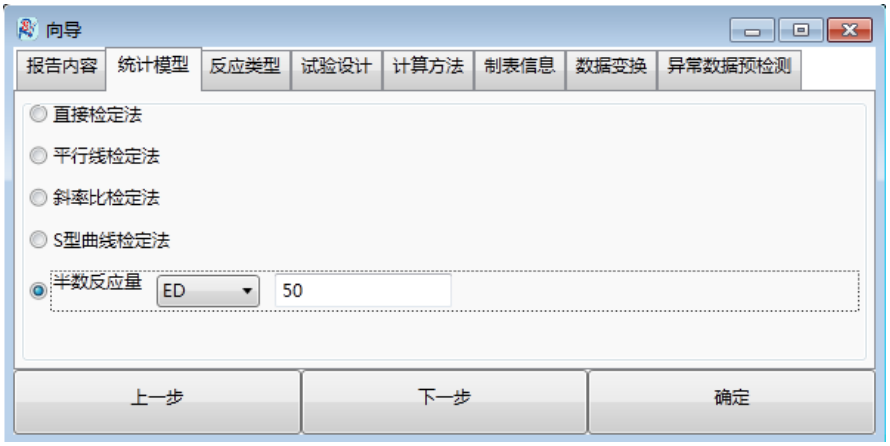
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定试验，所以在药品名称处填写口服脊髓灰质炎疫苗，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



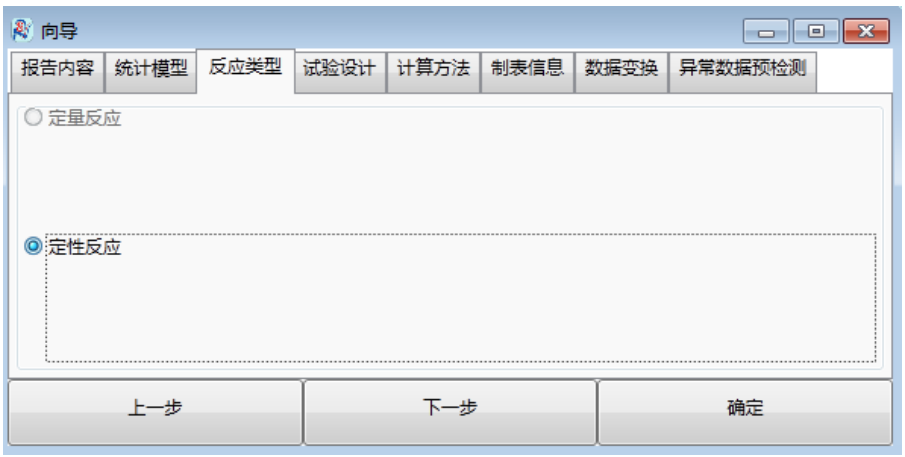
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择“半数反应量”中的 ED，数值选择为 50，向导中 ED 后面的数字，可以根据需要自行修改。



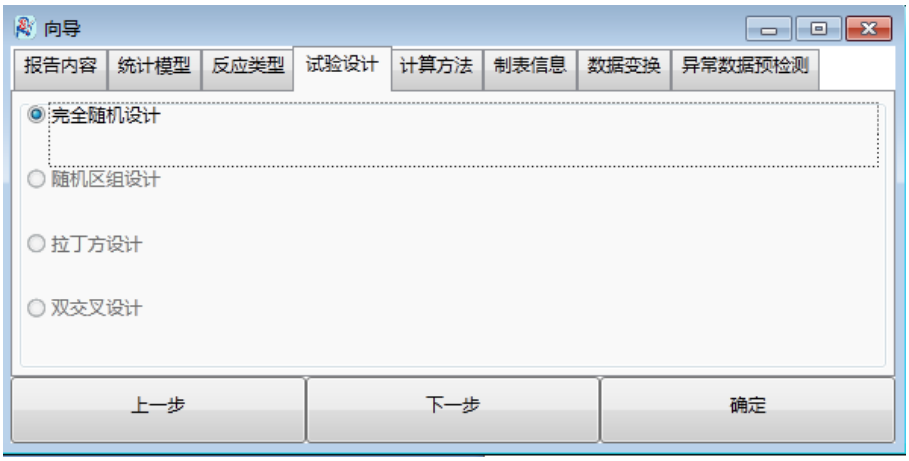
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于 ED50 检定均为定性反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定性反应，如下图所示：



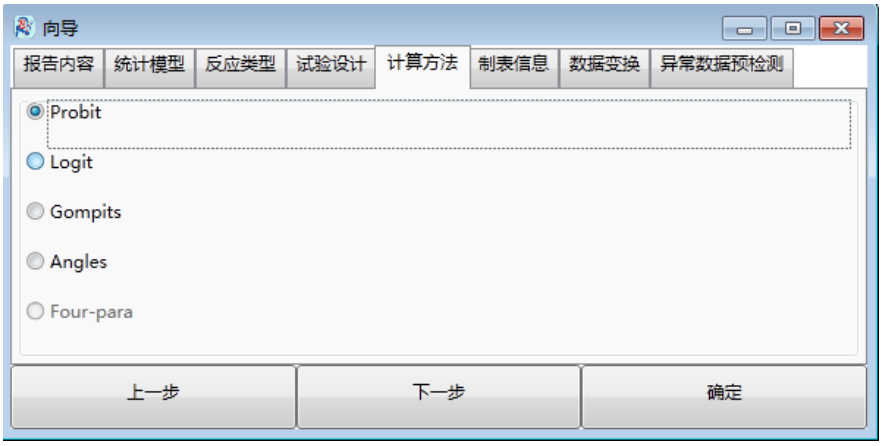
④检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案，ED50 试验只能是完全随机设计。



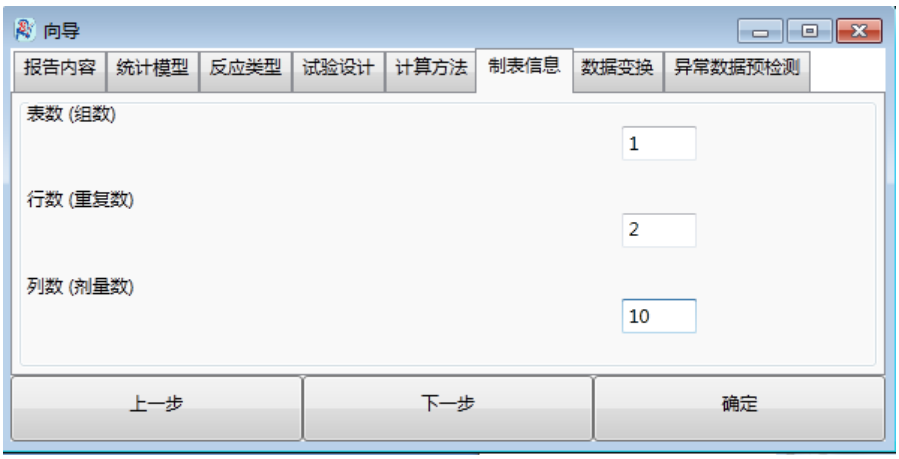
⑤计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如下图所示，在本例中选择 Probit 计算方法。



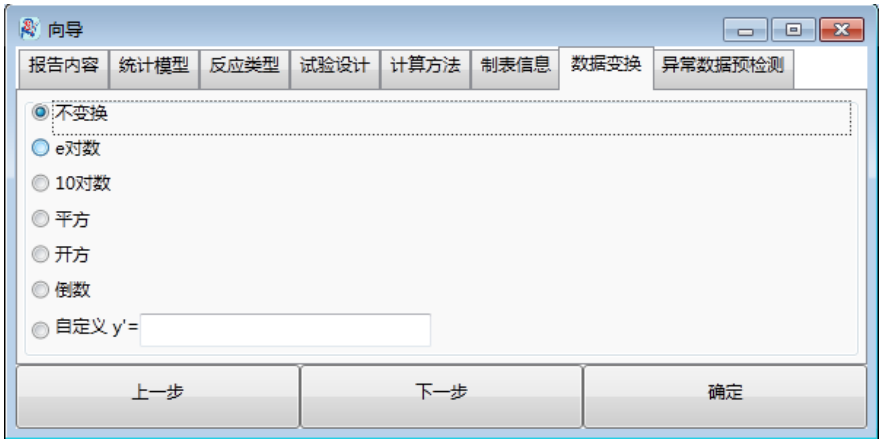
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（ED50 试验试验组只能是 1 组）、行数（只能选择两行，第一行为试验样品总数，第二行为观测的发生数）和列数（试验的剂量数）。



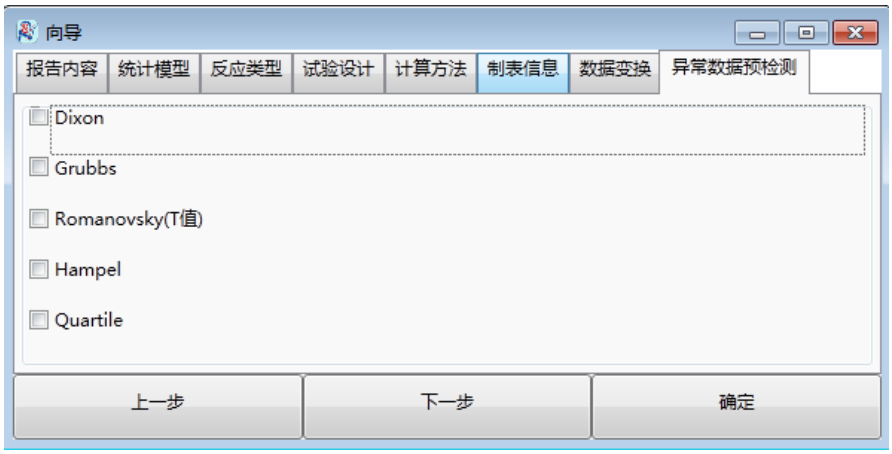
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



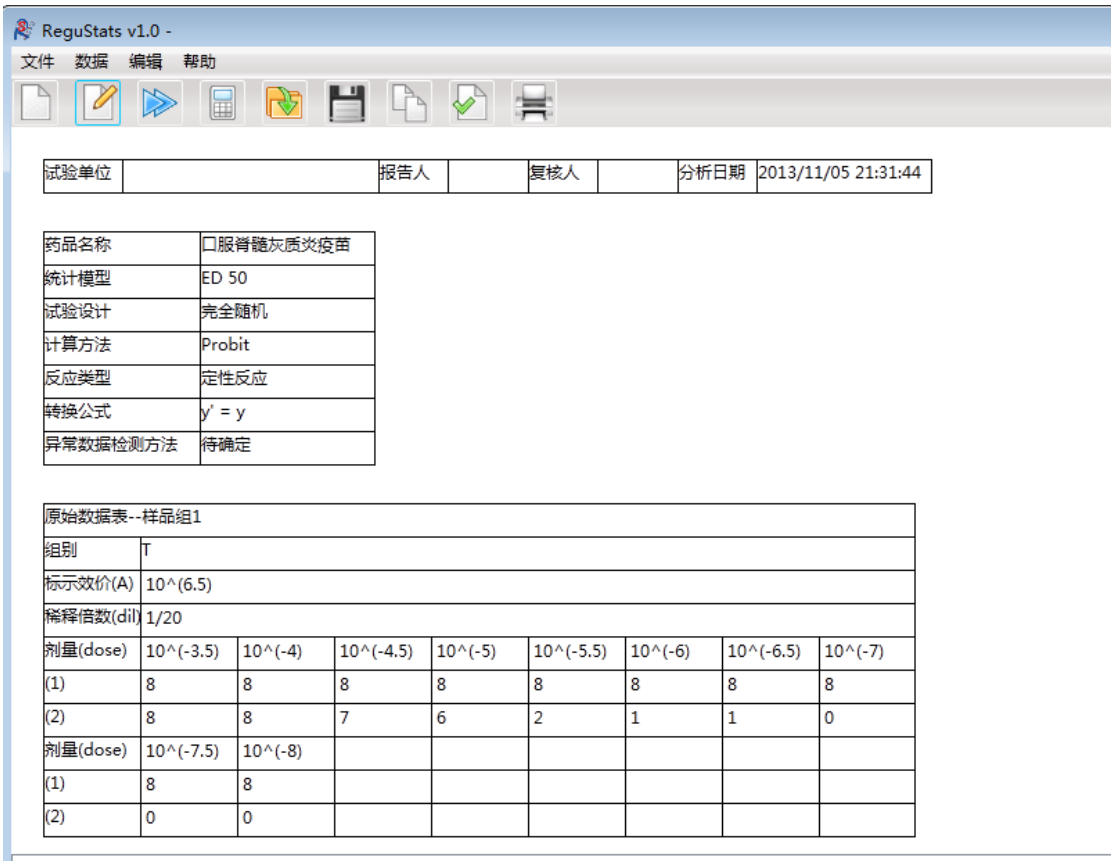
⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格里输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，数据后面不再输入各自的单位，稀释倍数若空白不填，则软件默认无稀释。数据第一行为试验样品总数，第二行为发生数。表格信息即数据输入如下：



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:31:44

药品名称	口服脊髓灰质炎疫苗
统计模型	ED 50
试验设计	完全随机
计算方法	Probit
反应类型	定性反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--样品组1								
组别	T							
标示效价(A)	10^(6.5)							
稀释倍数(dil)	1/20							
剂量(dose)	10^(-3.5)	10^(-4)	10^(-4.5)	10^(-5)	10^(-5.5)	10^(-6)	10^(-6.5)	10^(-7)
(1)	8	8	8	8	8	8	8	8
(2)	8	8	7	6	2	1	1	0
剂量(dose)	10^(-7.5)	10^(-8)						
(1)	8	8						
(2)	0	0						

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异

常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	卡方	P
回归	1	23.33739	23.33739	23.33739	0.00000 (***)
非线性	8	2.71119	0.33890	2.71119	0.95116
剂间	9	26.04858	2.89429	26.04858	0.00201 (**)
理论误差			1.000		
总和	9	26.04858	2.89429		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；非线性所对应的各 P 值均大于 0.05，表明该模型的变量间均呈直线关系；剂间对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明剂间有差异，试验是合理的。

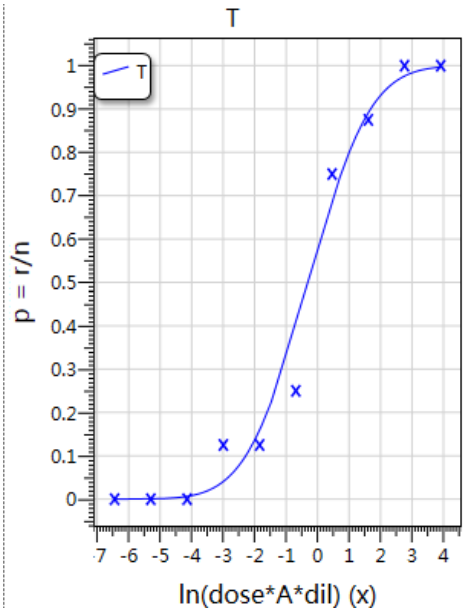
② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
Log10 ED50	6.3033	6.6313	6.9578
ED50	2010332.9617	4278351.7298	9074071.5685
标准误(Sm)	0.1669730119		

④ 模型在 $y' - \ln(\text{dose}*A*dil)$ 坐标系下的回归直线图及回归函数



6.5.2 ED10，ED50，ED90 模型 Probit 设计下的同时计算——口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定

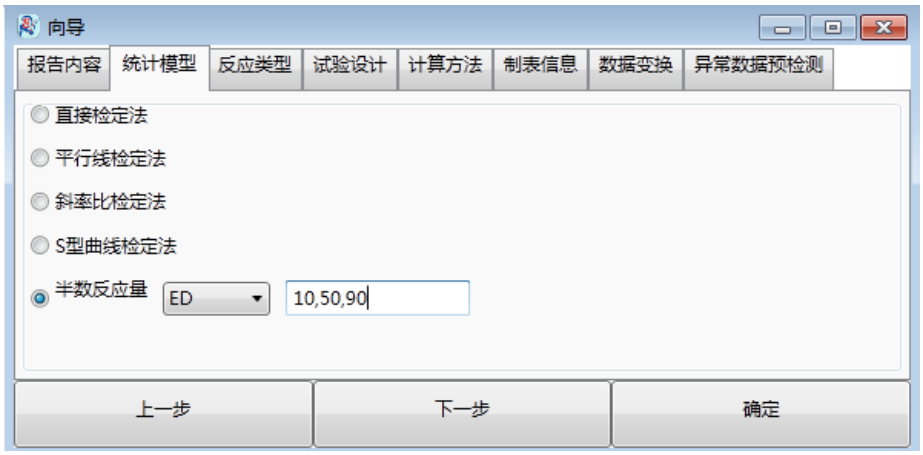
关于 ED10，ED50，ED90 模型 Probit 设计下同时进行计算的程序操作，本节以 6.5.1 节中口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定为例进行介绍，本软件程序见程序**例 6.5.2 ED10,50,90 同时计算**。实验描述见 6.5.1。

㈠ **建立或修改向导**

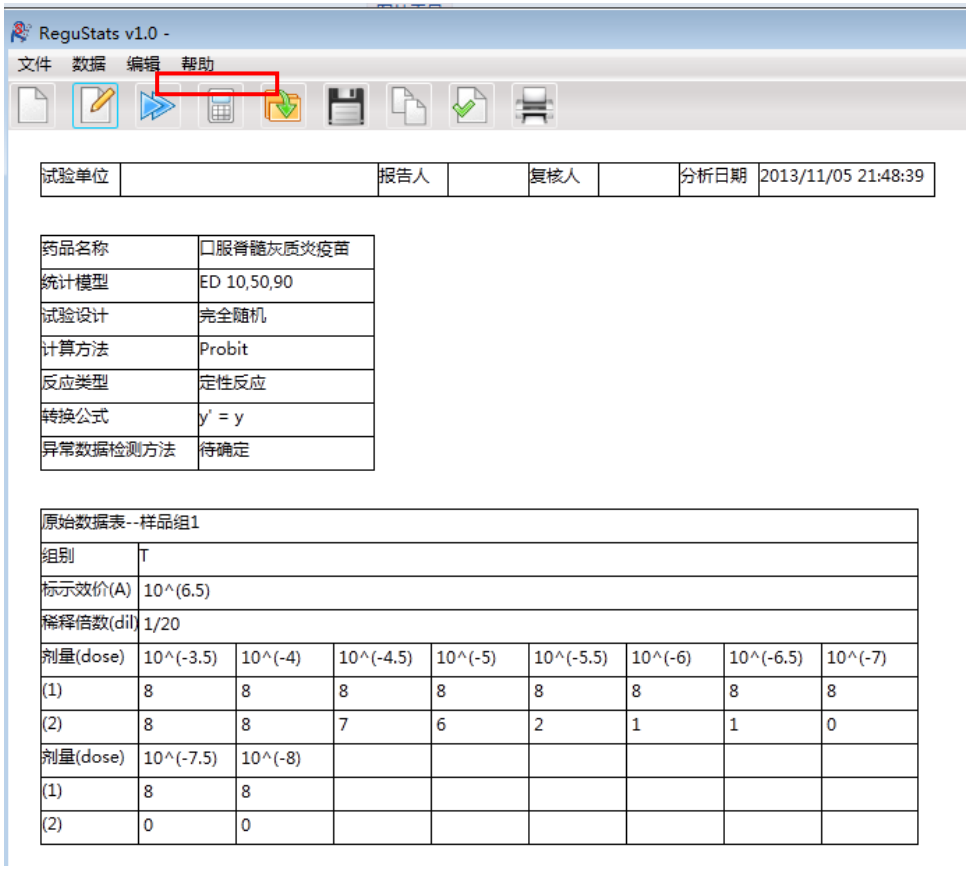
本节采用 6.5.1 节中口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定例子背景，在原有的 ED50Probit 的例子上加以修改进行于 ED10，ED50，ED90 模型的同时计算。

首先单击按钮打开 6.5.1 节中口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定程序，然后单击按钮，进行向导修改，向导中的第一项报告内容不加任何改动，在检定

模型中，将半数反应量 ED 后的数值改为 10,50,90，数值与数值之间用英文状态下的逗号（,）隔开，如下图所示：



单击确定，新生成表格和信息如下图所示，红色框内表示的是向导修改后所生成的表格与原有的 ED50 表格不同之处：



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:48:39

药品名称	口服脊髓灰质炎疫苗
统计模型	ED 10,50,90
试验设计	完全随机
计算方法	Probit
反应类型	定性反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--样品组1								
组别	T							
标示效价(A)	10^(6.5)							
稀释倍数(dil)	1/20							
剂量(dose)	10^(-3.5)	10^(-4)	10^(-4.5)	10^(-5)	10^(-5.5)	10^(-6)	10^(-6.5)	10^(-7)
(1)	8	8	8	8	8	8	8	8
(2)	8	8	7	6	2	1	1	0
剂量(dose)	10^(-7.5)	10^(-8)						
(1)	8	8						
(2)	0	0						

㈡ 程序运行及结果分析

程序运行：

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异

常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

结果分析：

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	卡方	P
回归	1	23.33739	23.33739	23.33739	0.00000 (***)
非线性	8	2.71119	0.33890	2.71119	0.95116
剂间	9	26.04858	2.89429	26.04858	0.00201 (**)
理论误差			1.000		
总和	9	26.04858	2.89429		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；非线性所对应的各 P 值均大于 0.05，表明该模型的变量间均呈直线关系；剂间对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明剂间有差异，试验是合理的。

② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

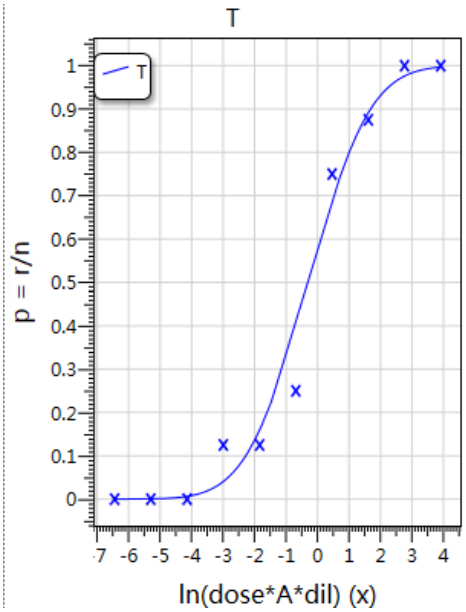
③ 试验组分别在 ED10,ED50,ED90 模型下的效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
Log10 ED10	7.1318	7.4925	8.1912
ED10	13546987.6338	31083858.8282	155296708.8254
标准误(Sm)	0.2702345708		

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
Log10 ED50	6.3033	6.6313	6.9578
ED50	2010332.9617	4278351.7298	9074071.5685
标准误(Sm)	0.1669730119		

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
Log10 ED90	5.0670	5.7700	6.1321
ED90	116688.9089	588868.1204	1355519.6642
标准误(Sm)	0.2717031232		

④ 模型在 $y' - \ln(\text{dose}*A*dil)$ 坐标系下的回归直线图及回归函数



6.5.3 LD50 模型 Probit 设计——口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定

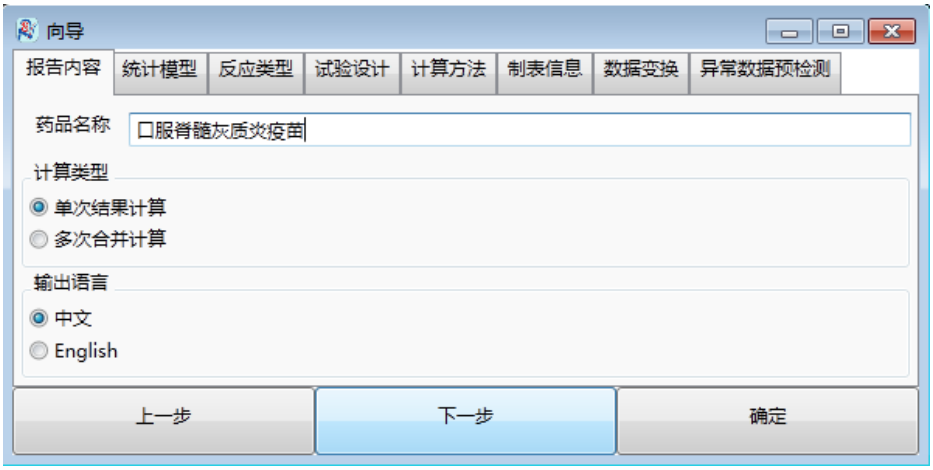
㈠ 药物实例背景及数据

药物实例背景同 6.5.1 节中的口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定，下面结合生物检定统计软件进行 LD50 模型 Probit 设计下的效价分析，本软件程序见**例 6.5.3 LD50Probit 设计**。

㈡ 创建向导

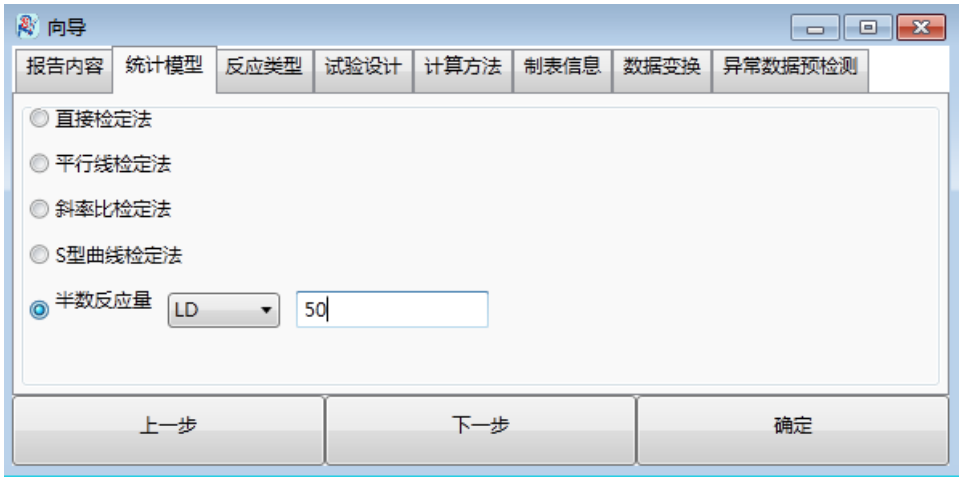
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为口服脊髓灰质炎疫苗的体外测定试验，所以在药品名称处填写口服脊髓灰质炎疫苗，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



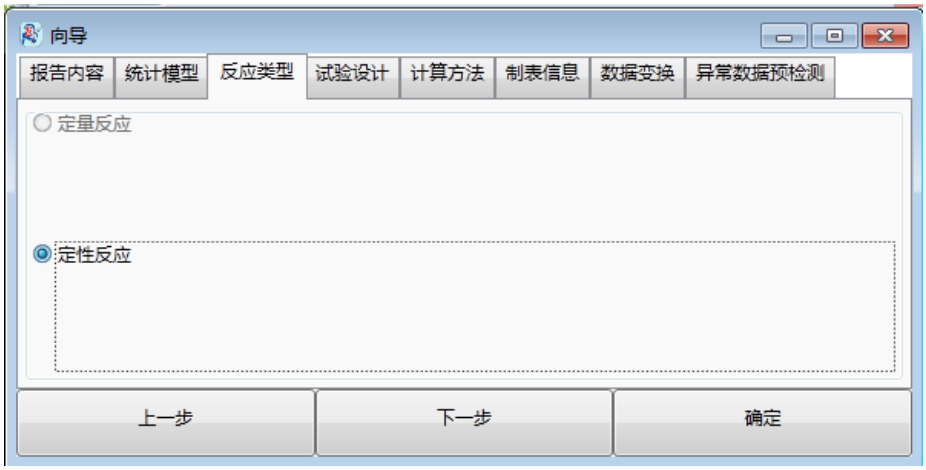
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择“半数反应量”中的 LD，数值选择为 50，向导中 LD 后面的数字，可以根据需要自行修改，也可以添加多个数据，用英文状态下的逗号（,）隔开。



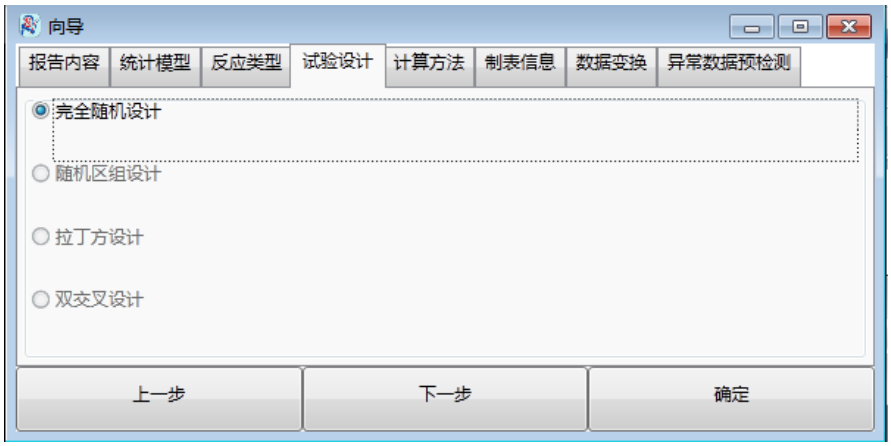
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于 LD50 检定均为定性反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定性反应，如下图所示：



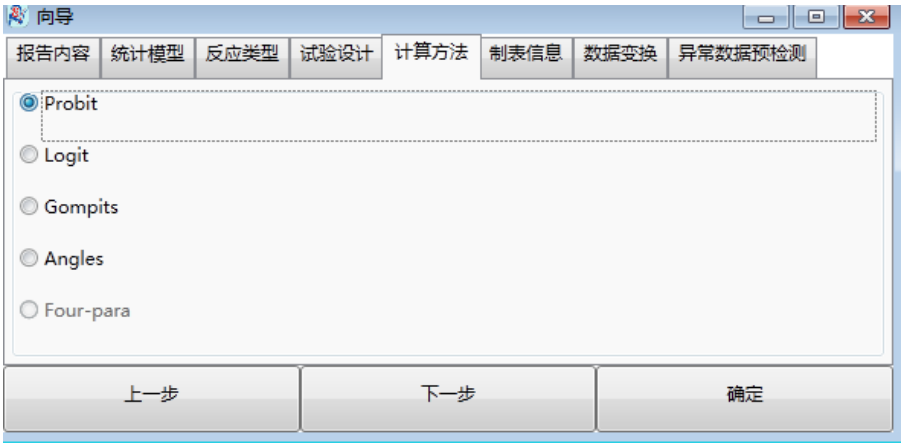
④检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案，LD50 试验只能是完全随机设计。



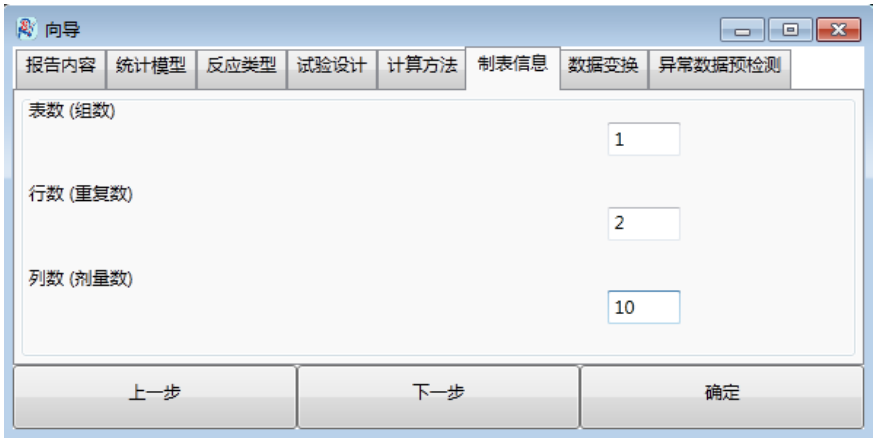
⑤计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如下图所示，在本例中选择 Probit 计算方法。



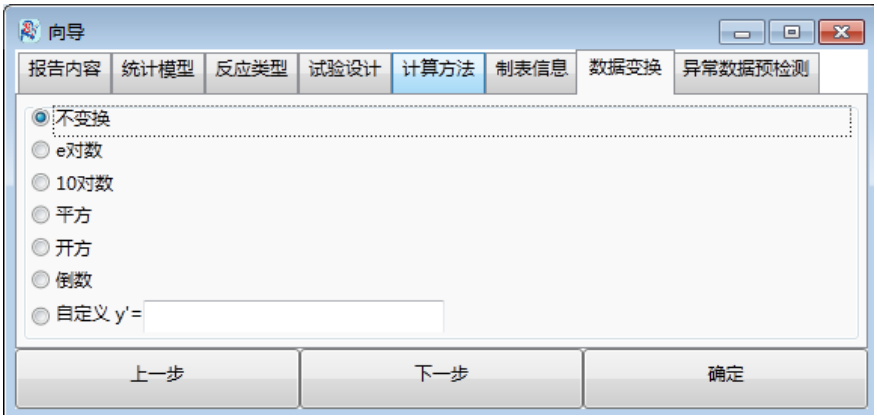
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（LD50 试验试验组只能是 1 组）、行数（只能选择两行，第一行为试验样品总数，第二行为观测的发生数）和列数（试验的剂量数）。



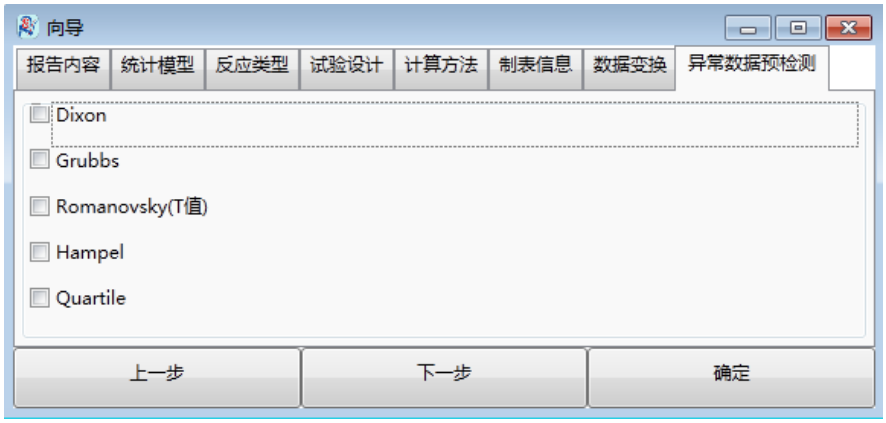
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



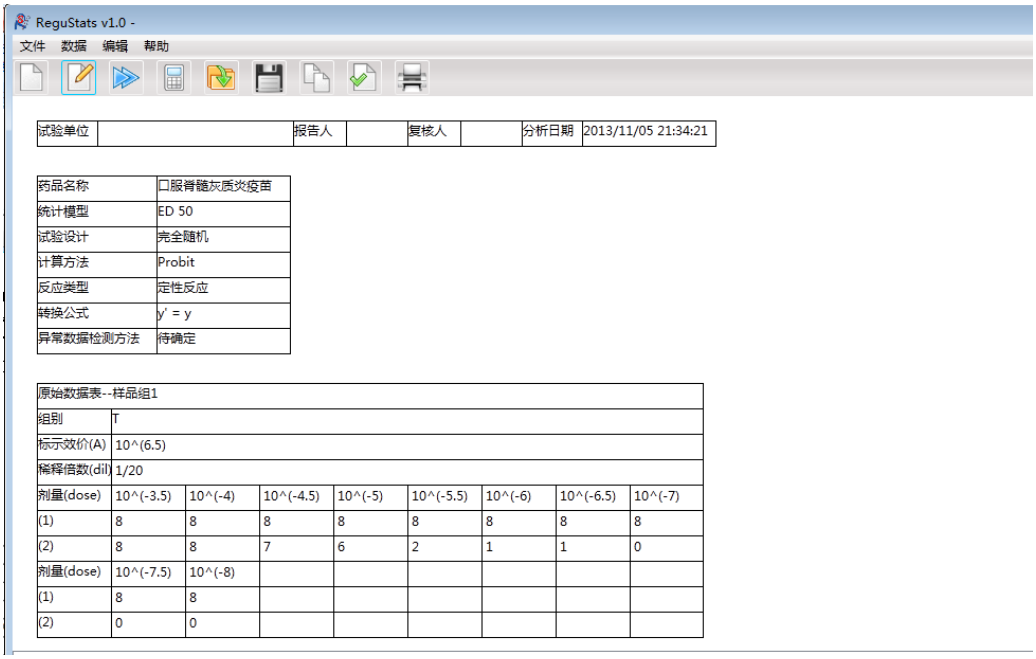
⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格里输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，组别信息为系统自动生成，效价、稀释倍数和剂量输入均根据试验设计输入，数据后面不再输入各自的单位，稀释倍数若空白不填，则软件默认无稀释。数据第一行为试验样品总数，第二行为发生数。表格信息即数据输入如下：



ReguStats v1.0 -

文件 数据 编辑 帮助

试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/05 21:34:21

药品名称	口服脊髓灰质炎疫苗
统计模型	ED 50
试验设计	完全随机
计算方法	Probit
反应类型	定性反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

原始数据表--样品组1								
组别	T							
标示效价(A)	10^(6.5)							
稀释倍数(dil)	1/20							
剂量(dose)	10^(-3.5)	10^(-4)	10^(-4.5)	10^(-5)	10^(-5.5)	10^(-6)	10^(-6.5)	10^(-7)
(1)	8	8	8	8	8	8	8	8
(2)	8	8	7	6	2	1	1	0
剂量(dose)	10^(-7.5)	10^(-8)						
(1)	8	8						
(2)	0	0						

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	卡方	P
回归	1	23.33739	23.33739	23.33739	0.00000 (***)
非线性	8	2.71119	0.33890	2.71119	0.95116
剂间	9	26.04858	2.89429	26.04858	0.00201 (**)
理论误差			1.000		
总和	9	26.04858	2.89429		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；非线性所对应的各 P 值均大于 0.05，表明该模型的变量间均呈直线关系；剂间对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，表明剂间有差异，试验是合理的。

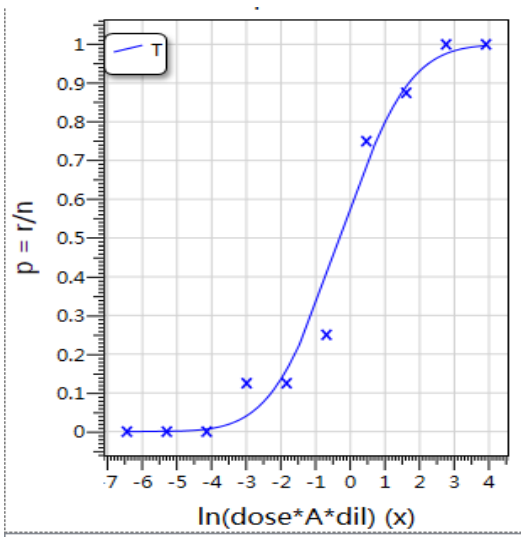
② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非线性无显著差异，可认为多组变量间呈直线关系。
试验结论有效，可靠。

③ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
Log10 LD50	6.3033	6.6313	6.9578
LD50	2010332.9617	4278351.7298	9074071.5685
标准误(Sm)	0.1669730119		

④ 模型在 $y' - \ln(\text{dose}*A*dil)$ 坐标系下的回归直线图及回归函数



6.6 合并计算

6.6.1 中国药典中的合并计算——肝素钠的效价测定

㈠ 药物实例背景及数据

以下数据来自于中国药典附录 P131 例 6 肝素钠 5 次测定结果的合并计算。本软件运行程序详见程序 **ChP2010 例 6 加权合并计算（结果均一）**。

下表为肝素钠 5 次试验结果的测定数据：

P_T u/mg	$M(\lg P_T)$	S_M	$W\left(\frac{1}{S_M}\right)$	WM	WM^2
189.28	2.2771	0.0289	1197.30	2726.37	6208.22
180.13	2.2556	0.0144	4822.53	10 877.70	24 535.74
189.72	2.2781	0.0105	9070.29	20 663.03	47 072.44
185.27	2.2678	0.006 33	24 957.01	56 597.51	128 361.83
181.25	2.2583	0.0278	1293.93	2922.08	6598.94
		Σ	41 341.06	93 786.69	212 767.17

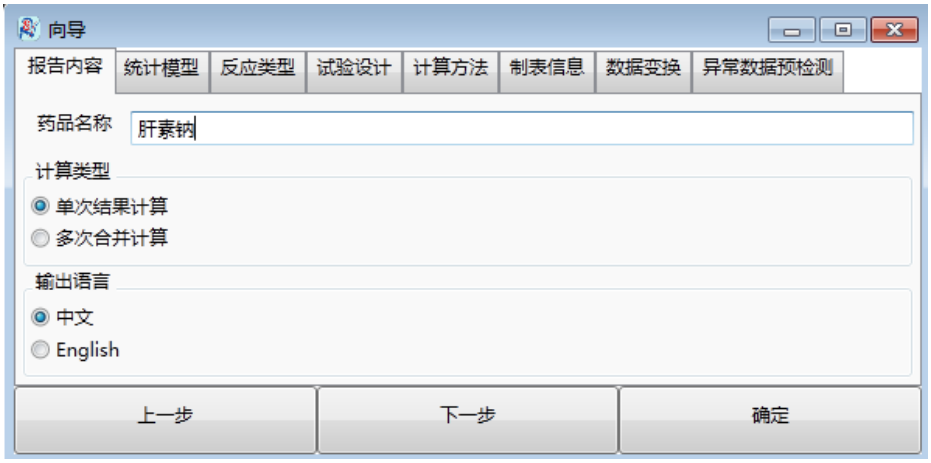
本软件所需要的数据为第一列的 P_T 和第三列 S_M，还有一个自由度的数据在表中没有给出；经查药典原文，该 5 次实验均采用 3.3 法，即标准品和待测品均为 3 个浓度，每个浓度采用 5 次重复，这样，各次实验的残差自由度均为 29-5=24。

下面结合生物统计软件运用合并计算的方法求出效价的估计值及上下限：

㈡ 创建向导

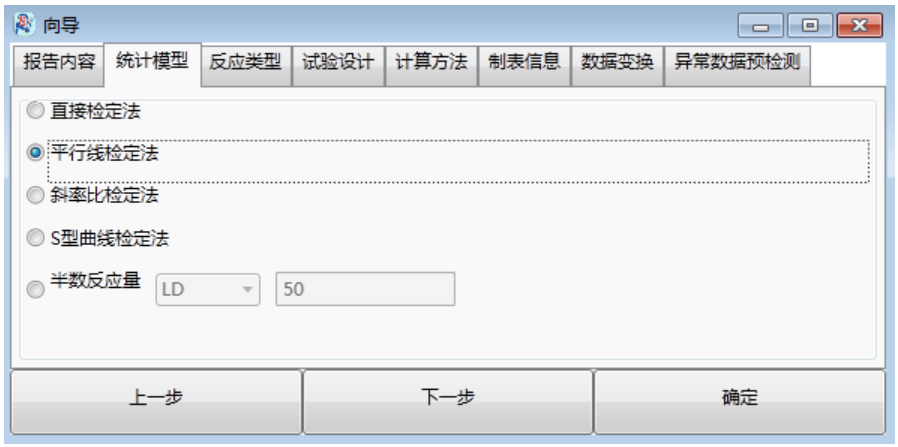
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为肝素钠的效价测定试验，所以在药品名称处填写肝素钠，计算类型为合并计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



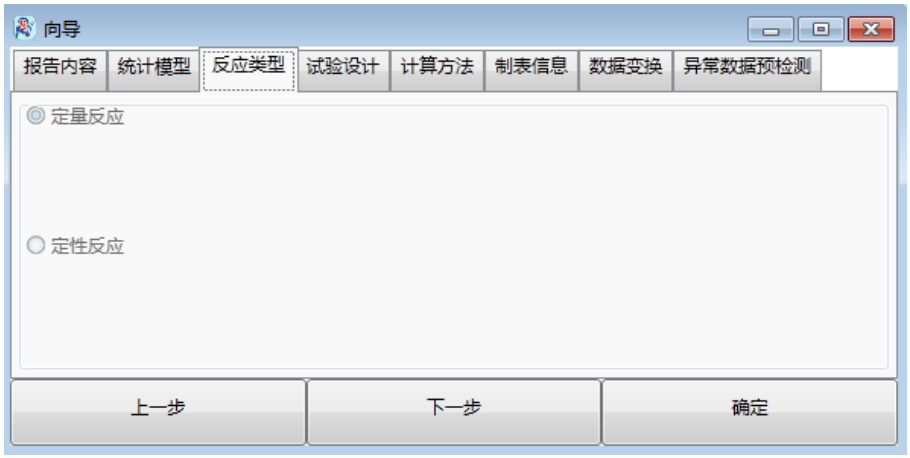
② 检定模型选择

在检定模型选项中，依照本例的试验背景选择平行线检定法。



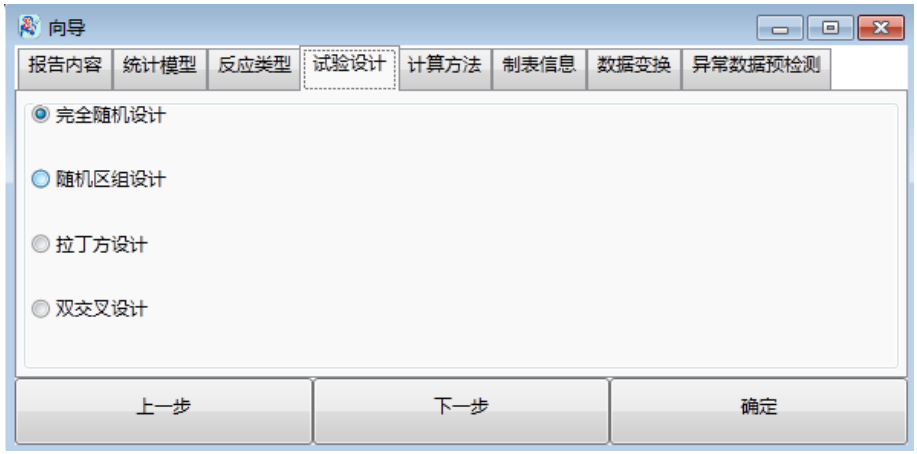
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于平行线检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



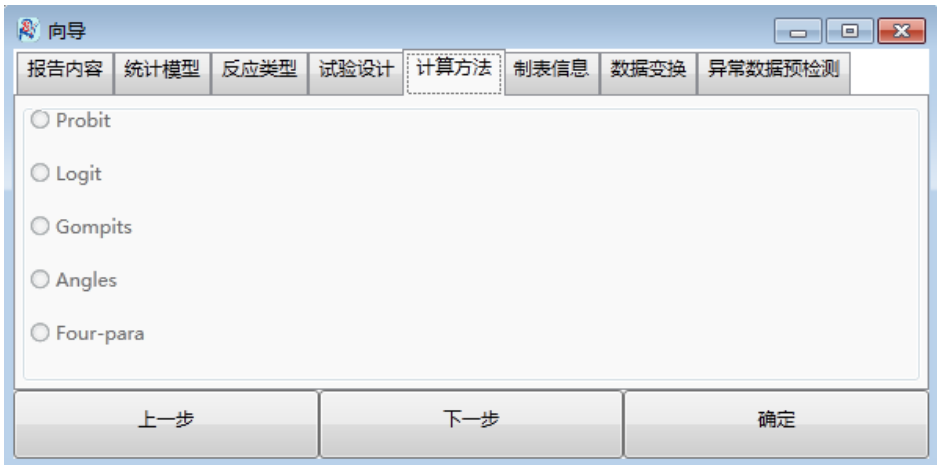
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



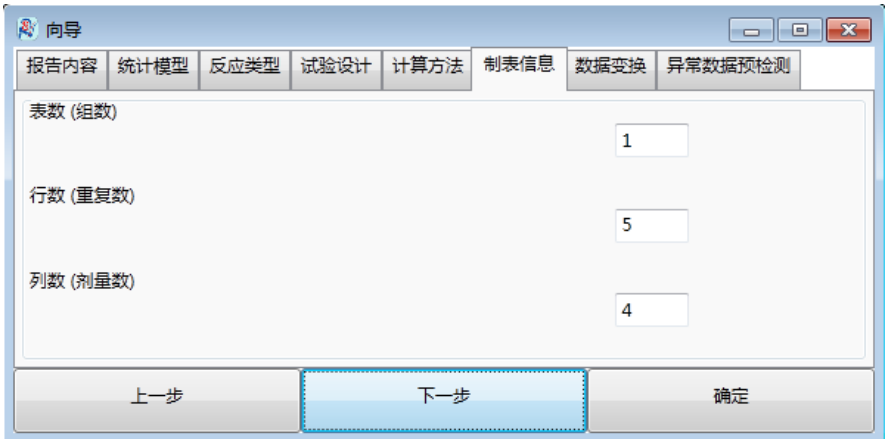
⑤ 计算模型选项

单击下一步，进入计算模型选项如下图所示，由于斜率比检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



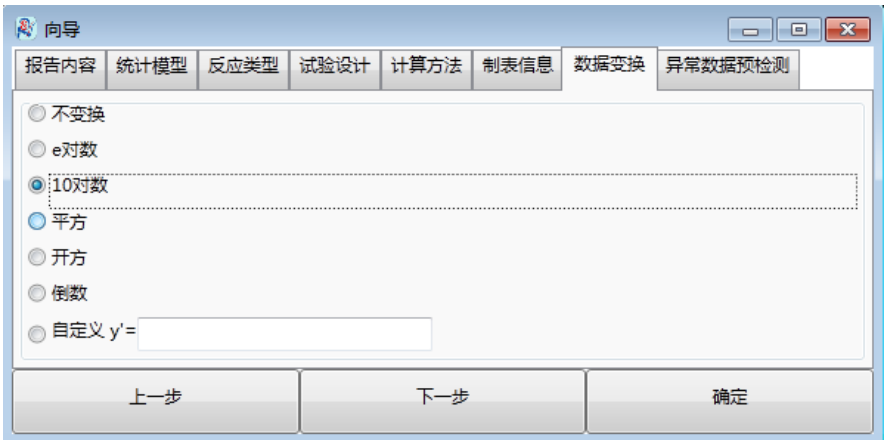
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（合并计算只有一个表格）、行数（来自于不同实验室的总的试验次数）和列数（中国药典中恒为 4 列）。关于合并计算的制表信息填写具体可参见“程序向导的正确使用”章节介绍（见第二章）。



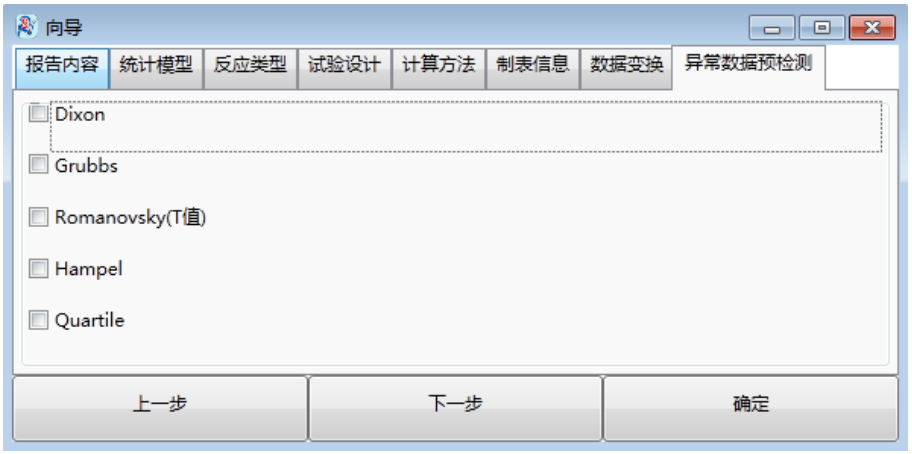
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，中国药典中的合并计算，其数据变化都经常以 10 为对数的数据变化（**注意：此处变换公式必须与标准误的计算时变换公式一致**）。



⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格中输入试验组别，效价，标准误和自由度(残差自由度)，输入完成后如下表所示（具体的数据录入方法和含义请参考帮助文件中的数据录入介绍一节,见第二章）：

原始数据表		标示效价(A)		
序号	组别	效价	标准误	自由度
1	1	189.28	0.0289	24
2	2	180.13	0.0144	24
3	3	189.72	0.0105	24
4	3	185.27	0.00633	24
5	3	181.25	0.0278	24

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 转换后的数据表格

转换后数据表		标示效价(A)	1	
序号	组别	效价	标准误	自由度
1	1	2.2771	0.0289	24
2	2	2.2556	0.0144	24
3	3	2.2781	0.0105	24
4	3	2.2678	0.00633	24
5	3	2.2583	0.0278	24

其中，转换后的数据表格效价这一列，是原始表格中的效价取以 10 为底的对数得来的。例如第一行的效价：$\log_{10} 189.28 = 2.2771$

② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
效价通过一致性检验，没有显著性差异，具有同质性。合并效价以及限度具有统计学意义。
建议使用加权合并计算结果，可信度较高。

③ 不同合并计算方式下的效价估计

试验组			
合并类型	加权合并		
	下限	估计值	上限
效价	181.4992	185.6147	189.8236
相对标示效价变化率			
相对估计效价变化率	97.78%	100.00%	102.27%
标准误(Sm)	0.0049182335		
可信限率	2.24%		

试验组			
合并类型	校正加权合并		
	下限	估计值	上限
效价	180.7777	185.6004	190.5518
相对标示效价变化率			
相对估计效价变化率	97.40%	100.00%	102.67%
标准误(Sm)	0.0057170623		
可信限率	2.63%		

试验组			
合并类型	不加权合并		
	下限	估计值	上限
效价	179.6699	185.0876	190.6688
相对标示效价变化率			
相对估计效价变化率	97.07%	100.00%	103.02%
标准误(Sm)	0.0046470108		
可信限率	2.97%		

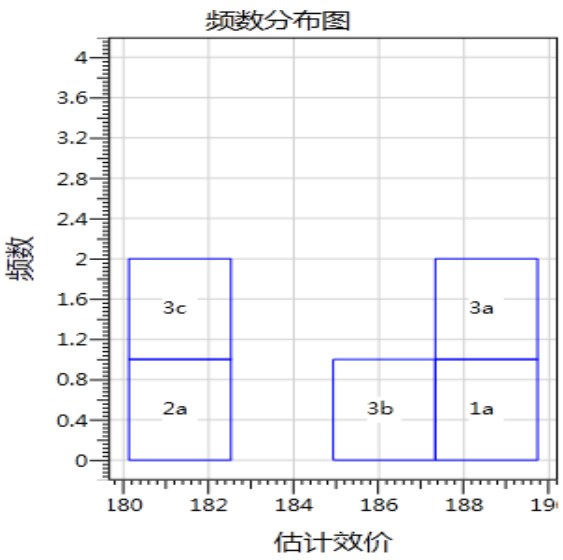
注意：关于上述三种计算方法，究竟该选择哪种进行报告，并没有严格的规律可循；本软件依据欧洲的下列相关规则进行推荐：

如果方差的同质性检验 **p** 值大于 **0.100**，那么可以说明各标准误或置信区间有充分的同质性，推荐选择“加权合并”的结果。

如果方差的同质性检验 **p** 值小于 **0.100**，那么说明各标准误或置信区间有一定的异质性，这时，推荐选择“校正加权合并”的结果。

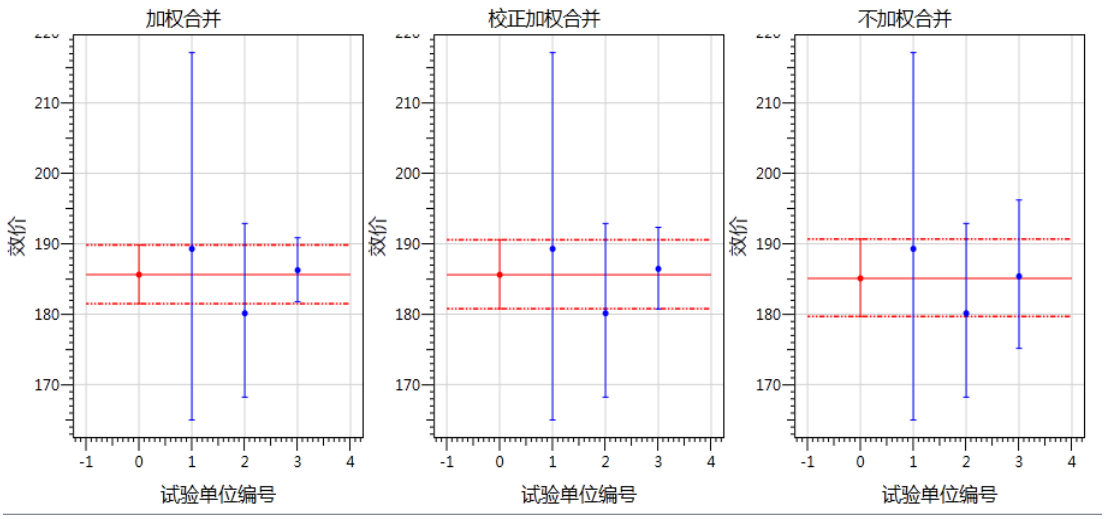
对于最后一种“不加权合并”，只有当有充足的实验次数才可以选用。一般至少要有 **6** 次实验的结果。

④ 估计效价的频数分布图



该图为不同实验室效价估计的分布情况图，横轴为效价估计值，纵轴为该效价出现的频数，图中所出现的列数为系统将实验结果所分的组数，同一列中效价大小由下到上排列，位于下方的组别效价估计较低，即效价 3c 大于 2a，3b 大于 1a。图中 1a 表示第一实验室的第一组数据(即数据表中组别 1 的第一组数据)，2a 表示第二实验室的第一组数据（即数据表中组别 2 的第一组数据），3a 表示第三实验室的第一组数据（即数据表中组别 3 的第一组数据），3b 表示第三实验室的第二组数据（即数据表中组别 3 的第二组数据），3c 表示第三实验室的第三组数据（即数据表中组别 3 的第三组数据）。

⑤ 不同合并计算方式下的效价—编号图



图中蓝色线是每个实验室的合并计算效价区间，蓝色实心点是该实验室

合并计算估计效价值，红色实心点是所有实验室数据合并计算的点估计，红色虚线是所有实验室数据合并计算的效价上下限，红色实线是经过总合并计算点估计值的水平直线。蓝色线上的实心点在虚线内表明该实验室数据是有效的，否则无效。

6.6.2 欧洲药典中的合并计算——肝素钠的效价测定

㈠ 药物实例背景及数据

以下数据来自于欧洲药典（EP7.0）Example 6.4。本软件程序详见程序 **EP7.0 Examples 6.4 合并计算(A.1.15)**。

依然采用 6.6.1 节中的肝素钠效价测定的试验，采用欧洲药典中合并计算的方法，试验数据如下所示：

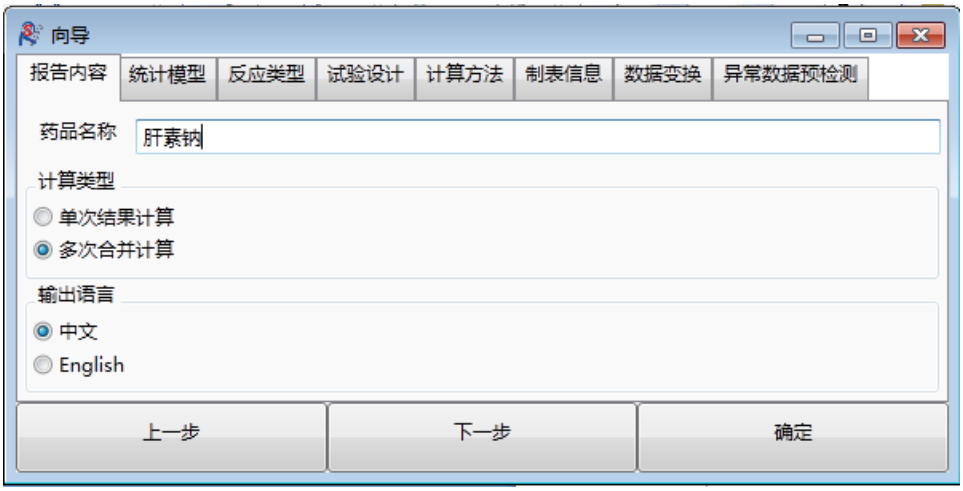
Potency estimate (I.U./vial)	Lower limit (I.U./vial)	Upper limit (I.U./vial)	Degrees of free-dom	ln po-tency *M*	Weight *W*
18 367	17 755	19 002	20	9.8183	3777.7
18 003	17 415	18 610	20	9.7983	3951.5
18 064	17 319	18 838	20	9.8017	2462.5
17 832	17 253	18 429	20	9.7887	4003.0
18 635	17 959	19 339	20	9.8328	3175.6
18 269	17 722	18 834	20	9.8130	4699.5

注意：表中的“Degrees of freedom”是指残差项的自由度。

㈡ 创建向导

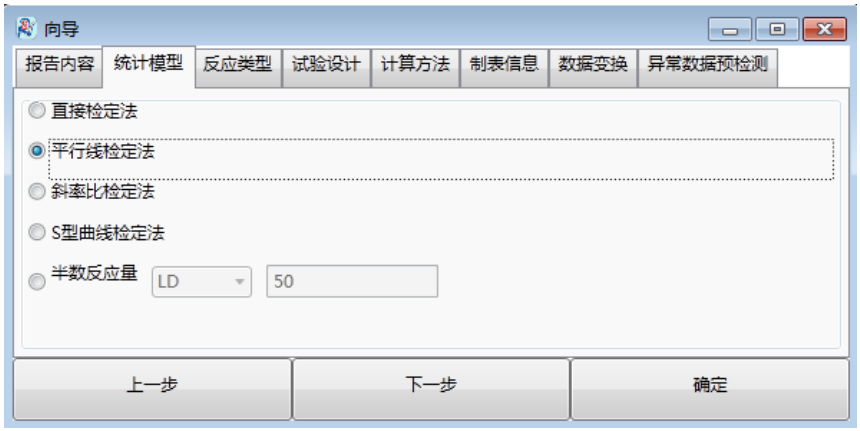
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为肝素钠的效价测定试验，所以在药品名称处填写肝素钠，计算类型为合并计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



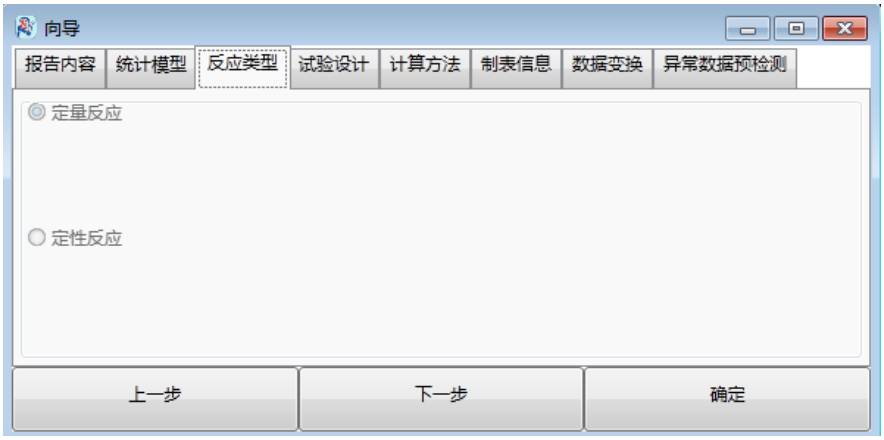
② 检定模型选择

在检定模型选项中，选择平行线检定法。



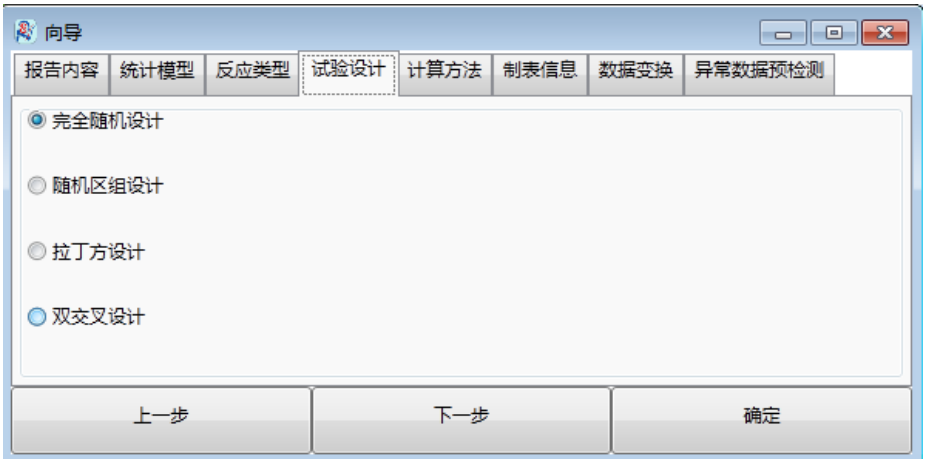
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于平行线检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



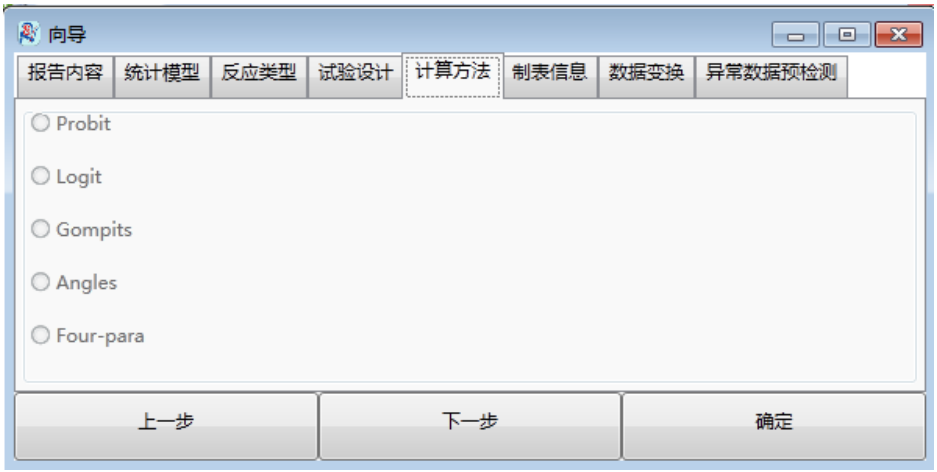
④ 检定设计选项

单击下一步，进入设计方案选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



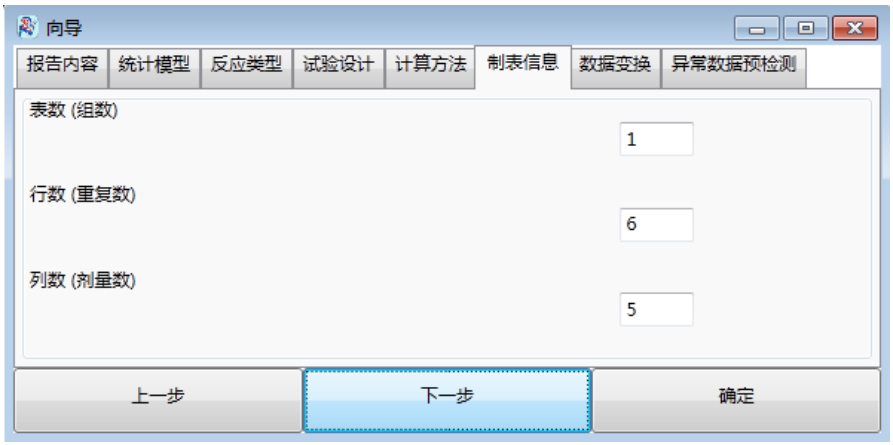
⑤ 计算模型选项

单击下一步，进入计算模型选项如下图所示，由于斜率比检定方法不涉及计算模型的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



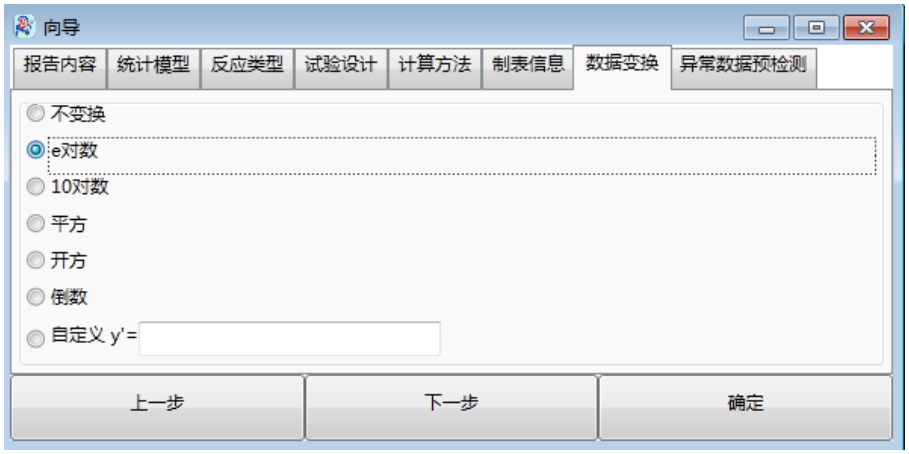
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（合并计算只有一个表格）、行数（试验组数）和列数（欧洲药典中恒为 5 列）。



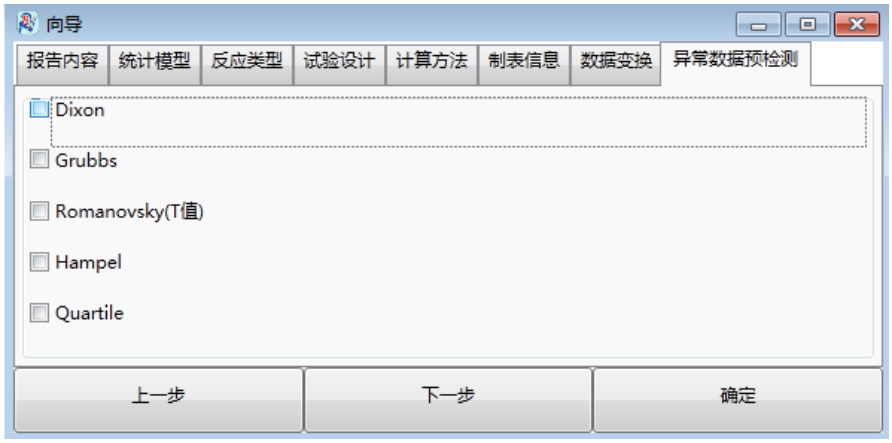
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，中国药典中的合并计算，其数据变化都必须经过以 e 为底的对数的数据变化（**注意：此处变换公式必须与标准误的计算时变换公式一致**）。



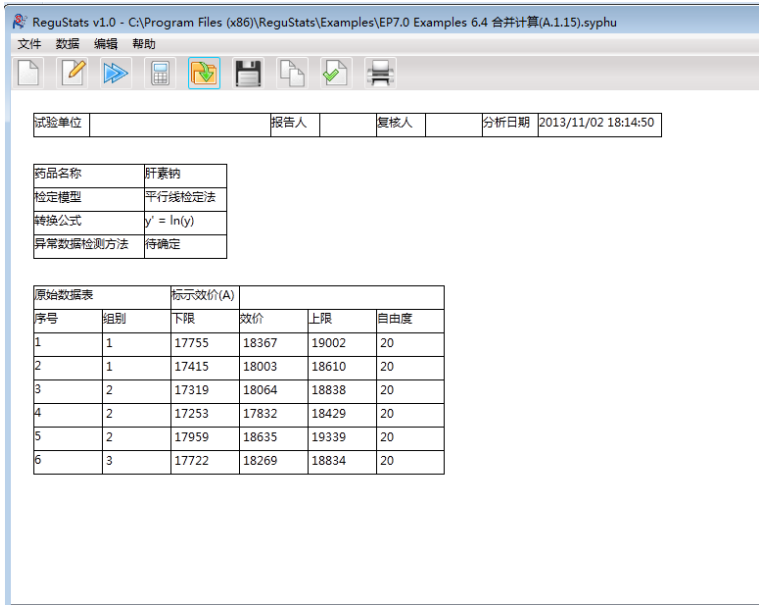
⑧ 异常数据检测

单击下一步，进入异常数据检测如下图所示，针对异常数据检测的功能应用有专门的例子进行介绍，本例中不做任何选择，采取无异常数据检测。点击确定，软件便生成一个满足试验要求的生物检定试验分析数据空白表格。



㈢ 试验数据输入

在所生成的空白表格中输入试验组别，效价，标准误和自由度(残差自由度)，输入完成后如下表所示（具体的数据录入方法和含义请参考帮助文件中的数据录入介绍一节,见第二章）：



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/02 18:14:50

药品名称	肝素钠
检定模型	平行线检定法
转换公式	y' = ln(y)
异常数据检测方法	待确定

原始数据表		标示效价(A)			
序号	组别	下限	效价	上限	自由度
1	1	17755	18367	19002	20
2	1	17415	18003	18610	20
3	2	17319	18064	18838	20
4	2	17253	17832	18429	20
5	2	17959	18635	19339	20
6	3	17722	18269	18834	20

㈣ 统计分析

数据输入完成后，单击 按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，由于本例在向导中选择无异常数据检测，所以在此运行对话框中，选择 NULL，进行无异常数据检测运行，单击确定出现统计分析结果图表。

㈤ 结果分析

① 转换后的数据表格

转换后数据表		标示效价(A)	1		
序号	组别	下限	效价	上限	自由度
1	1	9.7844	9.8183	9.8523	20
2	1	9.7651	9.7983	9.8315	20
3	2	9.7596	9.8017	9.8436	20
4	2	9.7557	9.7887	9.8217	20
5	2	9.7958	9.8328	9.8699	20
6	3	9.7826	9.8130	9.8434	20

其中，转换后的数据表格效价这一列，是原始表格中的效价取以 e 为底的对数得来的。例如第一行的效价：$\ln 17755 = 9.7844$

② 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
效价通过一致性检验，没有显著性差异，具有同质性。合并效价以及限度具有统计学意义。
建议使用加权合并计算结果，可信度较高。

③ 不同合并计算方式下的效价估计

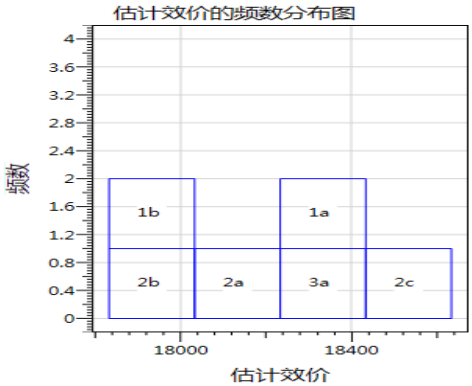
试验组			
合并类型	加权合并		
	下限	估计值	上限
效价	17946.0755	18186.8537	18430.8624
相对标示效价变化率			
相对估计效价变化率	98.68%	100.00%	101.34%
标准误(Sm)	0.0067313243		
可信限率	1.33%		

试验组			
合并类型	校正加权合并		
	下限	估计值	上限
效价	17926.1824	18187.7481	18453.1305
相对标示效价变化率			
相对估计效价变化率	98.56%	100.00%	101.46%
标准误(Sm)	0.0072429207		
可信限率	1.45%		

试验组			
合并类型	不加权合并		
	下限	估计值	上限
效价	17894.1048	18193.1071	18497.1057
相对标示效价变化率			
相对估计效价变化率	98.36%	100.00%	101.67%
标准误(Sm)	0.0064465854		
可信限率	1.66%		

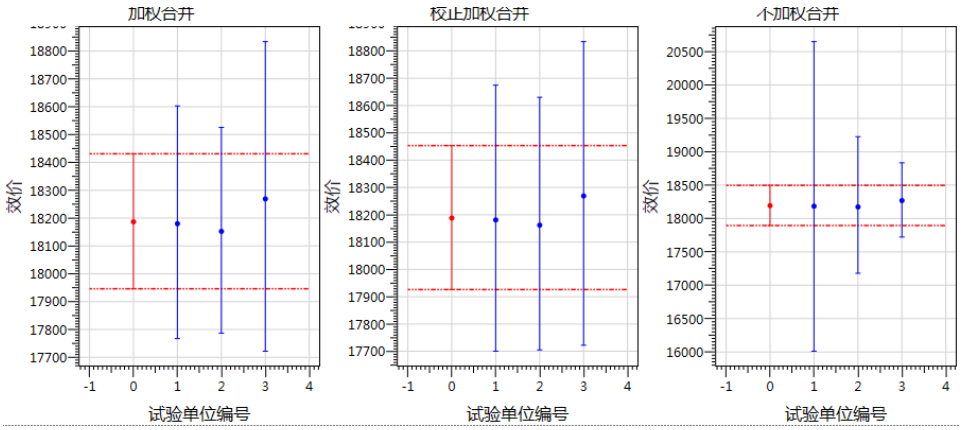
关于上述三种结果的采用选择，可参考本章 6.6.1 中的第五部分，即实验结果中的内容。

④ 估计效价的频数分布图



该图为不同实验室效价估计的分布情况图，横轴为效价估计值，纵轴为该效价出现的频数，图中所出现的列数为系统将实验结果所分的组数，同一列中效价大小由下到上排列，位于下方的组别效价估计较低，即效价 1b 大于 2b，1a 大于 3a。图中 1a 表示第一实验室的第一组数据（即数据表中组别 1 的第一组数据），1b 表示第一实验室的第二组数据（即数据表中组别 1 的第二组数据），同理 2a，2b，2c，3a 也是类似定义。

⑤ 不同合并计算方式下的效价—编号图



图中蓝色线是每个实验室的合并计算效价区间，点是该实验室合并计算估计效价值，红色点是所有实验室数据合并计算的点估计，虚线是所有实验室数据合并计算的效价上下限。蓝色线上的点在虚线内表明该实验室数据是有效的，否则无效。

6.7 异常数据检测——缩宫素效价测定

在药物检定实验中，由于人员操作或测量失误造成试验结果出现误差，从而导致个别数据出现异常，异常数据的出现会掩盖试验数据的变化规律，以致使研究对象变化规律异常，得出错误结论。因此，正确分析并剔除异常值有助于提高试验精度，得到精确的统计分析结果。下面，我们以平行线随机区组设计为背景结合药物实例进行异常数据检测的演示。

㈠ 药物实例背景及数据

以下数据来自于中国药典附录 P131 例 4 缩宫素效价测定。本软件运行程序详见程序 **ChP2010 例 4 平行线 2.2 随机区组设计含异常值（缩宫素大鼠离体子宫法）**。

实验描述：利用大鼠离体子宫法对某缩宫素进行效价测定。标准组 S 组为缩宫素标准品，标示效价为 1u/ml，使用剂量 0.00675 u 和 0.009 u；试验组 T 组为待测缩宫素，估计效价为 10 u/ml，使用剂量 0.00795 u 和 0.0106 u。试验测得各剂量组的子宫收缩高度（mm）如下表所示：

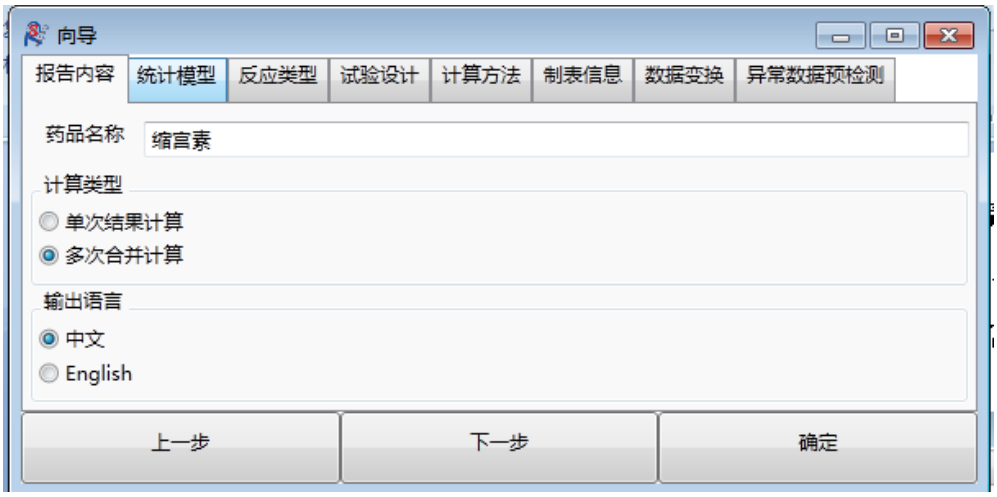
标准品 S		待测样品 T	
d_{S_1} (0.00675)	d_{S_2} (0.009)	d_{T_1} (0.00795)	d_{T_2} (0.0106)
39.5	68	41	71
37	62.5	36	53
35	63	37	62
31.5	58	15	60
30	50	35	60

下面运用生物检定统计软件对数据进行异常数据检测后进行平行线模型随机区组设计分析：

㈡ 创建向导

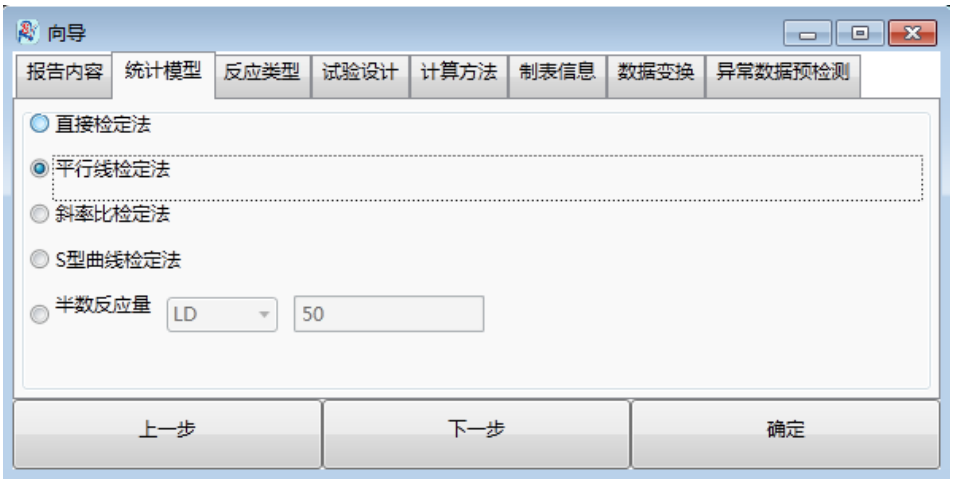
① 报告内容填写

打开生物检定统计软件，单击文件/新建向导，或者单击按钮 ，进入向导选项。本例为缩宫素效价测定试验，所以在药品名称处填写缩宫素，计算类型为单次计算，输出语言根据需要可以自行选择，本例中选为中文输出。



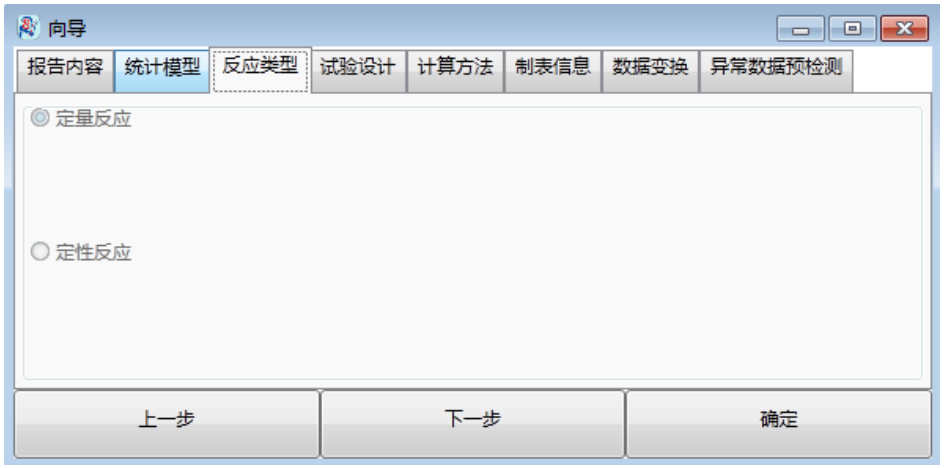
③ 检定模型选择

在检定模型选项中，选择平行线检定法。



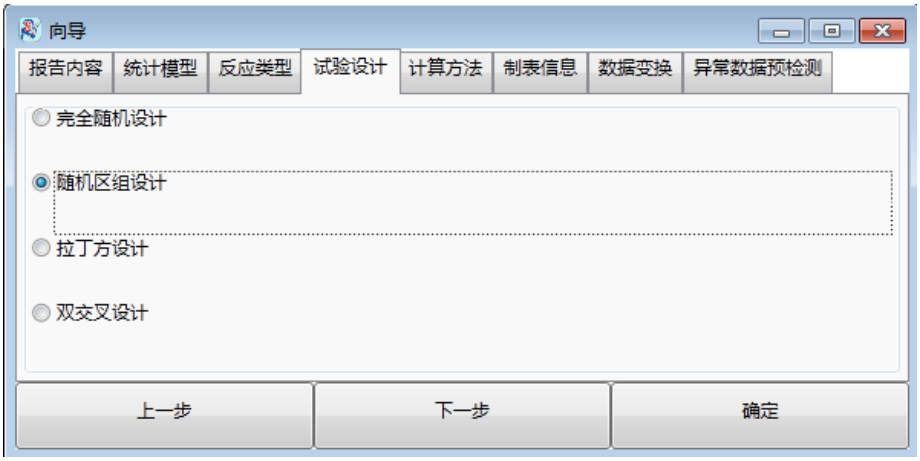
③ 反应类型选择

单击下一步，进入反应类型，由于平行线模型的检定均为定量反应，所以在这一步选项均为灰色，无法选择，系统默认定量反应，如下图所示：



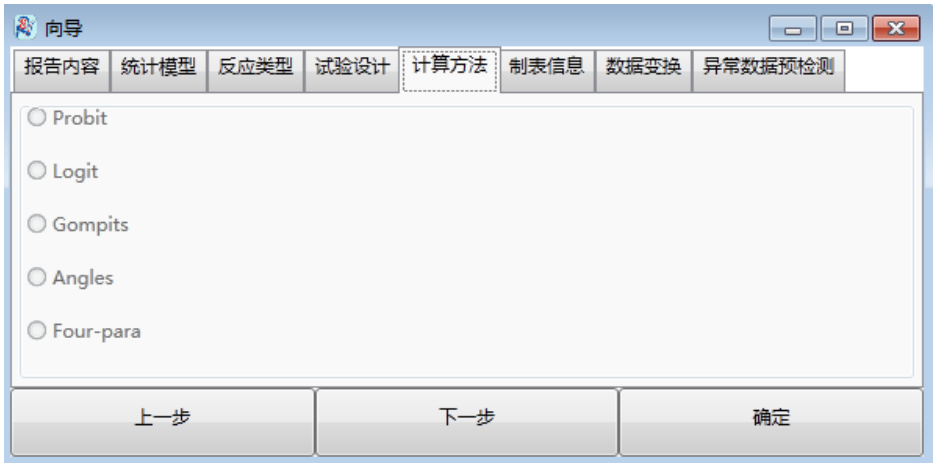
④检定设计选项

单击下一步，进入检定设计选项如下图所示，根据试验设计选择正确的设计方案。



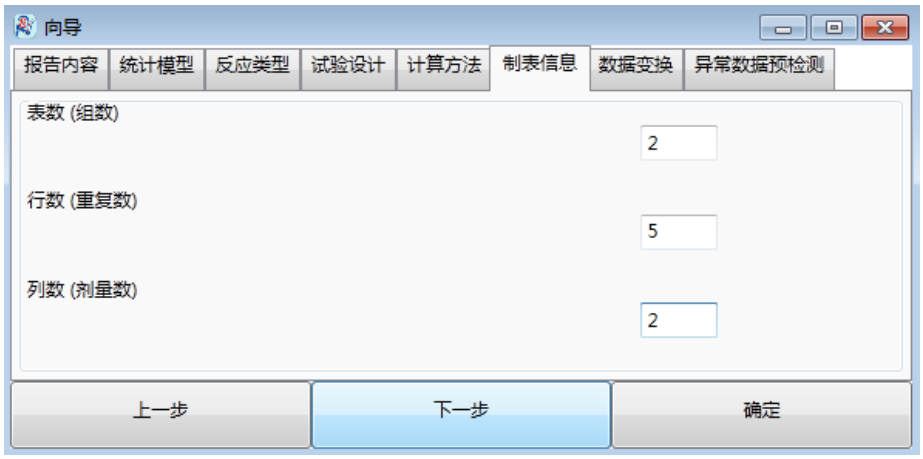
⑤计算方法选项

单击下一步，进入计算方法选项如下图所示，由于平行线模型不涉及计算方法的选择，所以这里的选项均为灰色，无法选择。



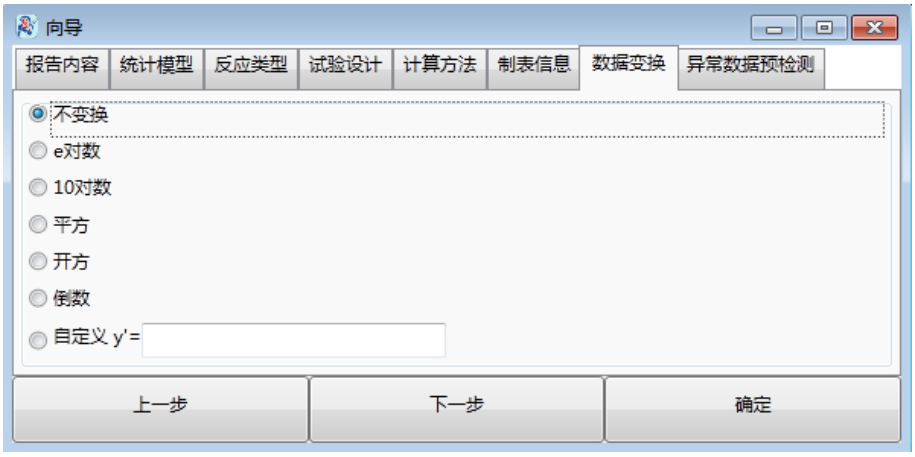
⑥ 制表信息选项

单击下一步，进入制表信息选项如下图所示，这个选项里需要确定 3 个数值，表数（标准组和试验组的总数）、行数（每个剂量下试验的重复次数）和列数（试验的剂量数）。



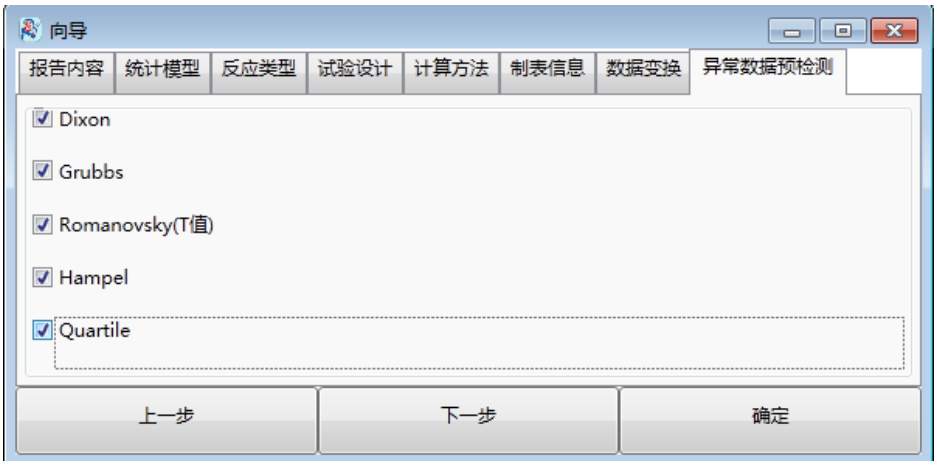
⑦ 数据变换选项

单击下一步，进入数据变换选项如下图所示，这个可以根据数据特征或根据经验选择合适的数据变换，针对变换后的数据进行统计分析，本例不采取任何变换。



⑧ 异常数据检测

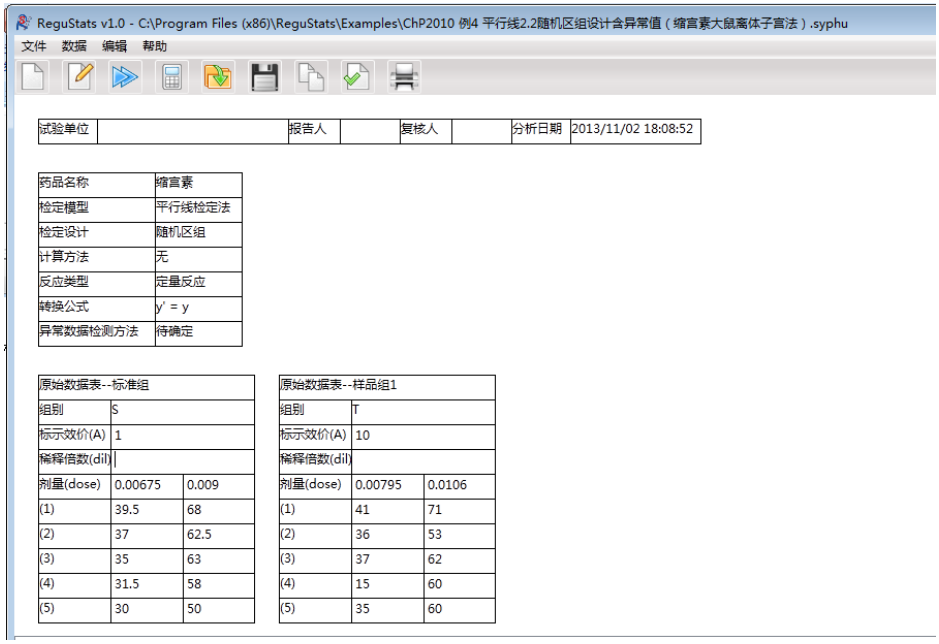
单击下一步，进入异常数据检测，向导的这一步可以选择一种或多种异常数据检测方法，本例选择如下图所示（选择了所有的异常数据检测）：



点击下一步，出现满足生物检定要求的空白数据表格。

㈢ 试验数据输入

在空白表格中输入效价，稀释倍数，剂量和试验数据，表格输入完成后如下表所示：



试验单位		报告人		复核人		分析日期	2013/11/02 18:08:52

药品名称	缩宫素
检定模型	平行线检定法
检定设计	随机区组
计算方法	无
反应类型	定量反应
转换公式	y' = y
异常数据检测方法	待确定

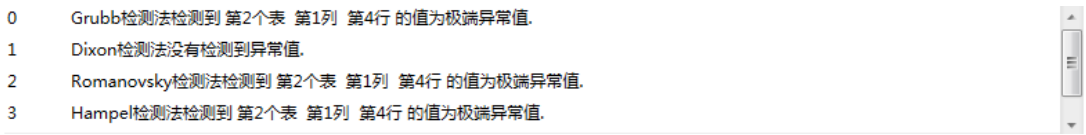
原始数据表--标准组		
组别	S	
标示效价(A)	1	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.00675	0.009
(1)	39.5	68
(2)	37	62.5
(3)	35	63
(4)	31.5	58
(5)	30	50

原始数据表--样品组1		
组别	T	
标示效价(A)	10	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.00795	0.0106
(1)	41	71
(2)	36	53
(3)	37	62
(4)	15	60
(5)	35	60

㈣ 统计分析

① 异常数据检测

数据输入完成后，单击按钮，可以进行异常数据检测，检测方法为向导里所选择的方法，即向导里选择哪种方法，软件就会给出该种方法的异常数据检测结果。本例中在向导异常数据检测这一步选择了所有的检测方法，所以单击后，异常数据检测结果为如下图所示：

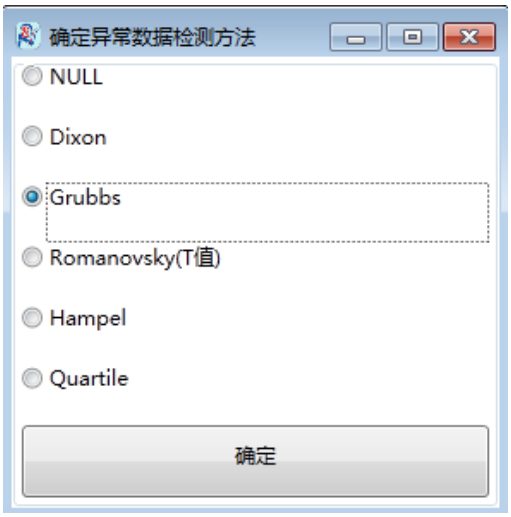


由于不同的异常数据检测方法，其统计原理不同，检验出的异常数据会有所不同，所以该步检测出异常数据之后，根据异常数据结果，应结合实际背景选择合适的异常数据处理方法，或者选择多种方法共同检验出的异常数据作为试验的异常数据进行处理。本例中，多种方法共同验证 T 组数据第一剂量下的第四个

试验数据（15）为异常值，所以接下来的程序运行中，我们接受数值（15）为异常数据，将选择检测出该数据为异常数据的检测方法运行程序。

② 程序运行

单击按钮进行统计分析，出现如下图所示的确定异常数据检定方法的对话框，根据上一步异常数据检测的分析，确定 T 组第一剂量下的第四个试验数值（15）为异常值，在该异常数据检测中，Grubbs，Romanovsky，Hampel 三种方法均检测出此结果，所以在此运行对话框中，选择上述 3 种方法的一种，程序均可正确剔除异常数据同时补充一个合理的数据后进行统计分析。**注意，此时只能选择一种方法运行程序，下面不妨选择 Grubbs 方法运行该程序。**



㈤ 结果分析

① 剔除异常数据同时补充合理数据后的数据表

运用 Grubbbs 异常数据检测方法剔除异常数据后运行程序，首先会出现修改后的数据表格如表 5.4 所示，T 组第一剂量下的第四个数据（15）被替换成（34.5）。

校正后数据表--标准组		
组别	S	
标示效价(A)	1	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.00675	0.009
(1)	39.5	68
(2)	37	62.5
(3)	35	63
(4)	31.5	58
(5)	30	50

校正后数据表--样品组1		
组别	T	
标示效价(A)	10	
稀释倍数(dil)		
剂量(dose)	0.00795	0.0106
(1)	41	71
(2)	36	53
(3)	37	62
(4)	34.500000	60
(5)	35	60

② 方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F	P
试品间	1	11.25000	11.25000	0.81805	0.38513
回归	1	3150.05000	3150.05000	229.05668	0.00000 (***)
非平行	1	1.80000	1.80000	0.13089	0.72437
剂间	3	3163.10000	1054.36667	76.66854	0.00000 (***)
区组间	4	285.82500	71.45625	5.19596	0.01343 (*)
残差	11	151.27500	13.75227		
总和	18	3600.20000	200.01111		

方差分析表里显示了各变异的自由度，变异平方和，均方和，F 值，和 P 值，我们主要观察 P 值的大小，P 值大小显示了该变异是否是显著的，例如，P 值一列，试品间对应的 $P = 0.38513 > 0.05$，说明该试验试品间无显著性差异，试验是合理的；回归对应的 $P = 0.00000 < 0.05$，说明该模型回归是高度显著的；非平行性所对应的 $P = 0.72437 > 0.05$，表明试验组和标准组模型回归直线之间的平行性在 $\alpha = 0.05$ 的显著水平下是不可以接受的。

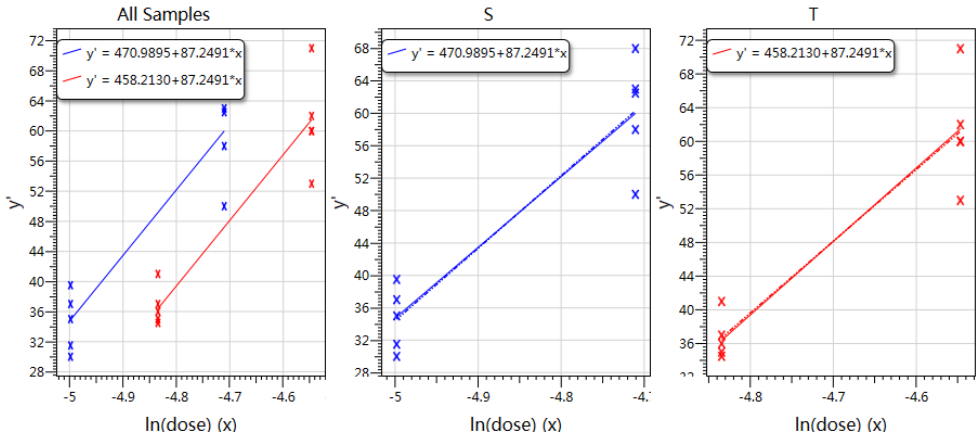
③ 系统可靠性分析结论

可靠性分析结论
试品间无显著差异。 回归有非常显著性差异，有统计学意义，回归方程有效。 非平行无显著性差异，可认为多组直线平行。
试验结论有效，可靠。

④ 试验组效价估计

试验组			
组别	T		
	下限	估计值	上限
效价	8.2826	8.6378	9.0149
相对标示效价变化率	82.83%	86.38%	90.15%
相对估计效价变化率	95.89%	100.00%	104.37%
标准误(Sm)	0.0083590741		
可信限率	4.24%		

⑤ 模型在 $y' - \ln(\text{dose})$ 坐标系下的回归直线图及回归函数

横轴表示剂量的对数即 ln(dose)，左侧为低浓度，右侧为高浓度。纵轴为响应值。“×”表示为单独处理中的响应值。两条线分别表示标准组与试验组在

y-ln(dose)下的回归直线，如下图所示：