

JISU MIANYI FENXI
YU LINCHUANG

激素免疫分析与临床

◆ 主 编 王新华 李延伟 于水江 王世平



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

THE MILLER INTERNATIONAL
SYMPOSIUM

激素免疫分析与临床

主编 王卫庆 副主编 李松林 王松林

人民卫生出版社
www.pph.com.cn

激素免疫分析与临床

JISU MIANYI FENXI YU LINCHUANG

主 审 侯振江

主 编 王华新 李延伟 于水江 王世平

副主编 (以姓氏笔画为序)

于锦生 叶 圣 田庆华 刘海燕

许国敏 杨 力 杨洪云 宋爱华

康丽娜 程茂林

编 者 (以姓氏笔画为序)

于水江 于锦生 王世平 王华新

叶 圣 田庆华 刘海燕 许国敏

李云凤 李延伟 杨 力 杨 丽

杨洪云 宋爱华 康丽娜 程茂林



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

激素免疫分析与临床/王华新等主编. —北京:人民军医出版社,2012.5
ISBN 978-7-5091-5670-4

I. ①激… II. ①王… III. ①激素—医学检验—分析—研究 IV. ①R446.69

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 073167 号

策划编辑:郝文娜 文字编辑:陈娟 责任审读:吴然
出版人:石虹
出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店
通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱 邮编:100036
质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283
邮购电话:(010)51927252
策划编辑电话:(010)51927282
网址:[www. pmmp. com. cn](http://www.pmmp.com.cn)

印、装:北京国马印刷厂
开本:787mm×1092mm 1/16
印张:13.75 字数:328千字
版、印次:2012年5月第1版第1次印刷
印数:0001—2800
定价:49.00元

版权所有 侵权必究
购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

内容提要

本书由多位临床检验专家共同编写。全书共分 12 章,包括技术篇与临床篇。技术篇重点介绍了放射免疫技术、免疫放射技术、酶免疫分析技术、化学发光免疫分析技术、时间分辨免疫荧光分析技术的原理、对激素的免疫分析质量控制等知识。临床篇重点介绍了临床检验中常见的垂体激素、性腺激素、甲状腺激素、甲状旁腺激素、胰腺激素、肾素及类固醇激素中 29 种激素临床检验的方法学评价、标本采集、参考区间以及临床应用。本书注重临床与检验的有机结合,参考大量国内外文献,力求实用,科学严谨,可供临床医师、检验工作者参阅。

前言

随着国内外检验技术的不断发展,激素检测已成为临床诊疗中非常重要的手段,检验工作者需对每个常用检测项目进行详细了解,以求更好地应用于临床,然而查阅国内有关这方面的参考书却凤毛麟角,鉴于此,我们编写了这本《激素免疫分析与临床》。

本书包括两大部分,一是激素检测常用的技术与质控,即检测方法 & 检测仪器的介绍,包括放射免疫、化学发光、电化学发光、时间分辨免疫荧光等技术,以及室内质控方法与处理、室间质评项目介绍;二是激素检测与临床,包括垂体、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、胰腺、性腺激素、类固醇激素等共计 29 个检测项目,对每个检测项目进行详细介绍,包括生物学特性、方法学比较(方法原理、灵敏度、特异性及检测范围)、标本采集、干扰因素、参考值及临床应用等。鉴于目前采用的检测方法多种多样,本书对具有代表性的检测仪器测定项目的有关信息也进行了介绍。

本书综合国内外大量文献,结合实际工作经验,进行整理、分析,旨在让每位读者对每个检测项目都能得到详尽了解,指导临床检验工作,更好地应用于临床。

本书的编者都是工作在临床一线的专家,从事内分泌检验技术的临床、科研及教学工作,有着娴熟的检验技术及丰富的临床经验,更为可贵的是他们都具有坚持不懈、勤奋好学、科学严谨的精神,为了我国检验事业发展,在编写过程中,他们花了大量宝贵的业余时间和倾注了大量心血,此书才得以完成。在编写及出版过程中,得到主审侯振江教授的大力支持,在此表示由衷的感谢。本书存在的不足之处敬请专家读者不吝指教。

王华新

2011 年 10 月

目 录

技 术 篇

第 1 章 放射免疫分析技术	(3)
第一节 概述	(3)
第二节 RIA 法	(4)
一、原理	(4)
二、反应体系	(5)
第三节 IRMA 法	(8)
一、原理	(8)
二、特点	(8)
第 2 章 酶免疫分析	(10)
第一节 原理	(10)
一、基本原理	(10)
二、反应模式	(11)
第二节 ELISA 影响因素	(13)
一、载体	(13)
二、酶结合物	(13)
三、底物	(13)
四、酶标仪	(13)
第 3 章 化学发光免疫技术及仪器	(16)
第一节 发光免疫分析	(16)
一、基本原理	(16)
二、主要类型	(16)
第二节 化学发光免疫分析仪	(20)
一、基本结构	(21)
二、简介几种常见化学发光仪	(21)
三、不同型号 CLIA 技术参数比较与分析方法比较	(27)
第三节 化学发光免疫诊断试剂	(27)
一、原理和特点	(27)
二、试剂盒质量技术参数	(28)
三、选购化学发光试剂盒注意事项	(29)

四、化学发光免疫分析技术发展趋势	(29)
第4章 时间分辨荧光免疫分析	(31)
第一节 TRFIA 原理	(31)
一、分析原理	(31)
二、时间分辨信号原理	(31)
三、解离增强原理	(31)
第二节 仪器介绍	(32)
一、工作原理	(32)
二、反应过程	(33)
三、突出特点	(33)
四、检测项目	(33)
第5章 激素检测质量控制	(34)
第一节 概述	(34)
一、检测系统管理	(34)
二、校准和校准验证	(34)
三、室间质量评价	(35)
四、室内质量控制	(35)
五、标准操作规程	(35)
六、检验报告	(36)
第二节 室内质量控制	(37)
一、目的	(37)
二、Levey-Jennings 质控图原理	(37)
三、开展室内质控前准备工作	(38)
四、Westgard 多规则质控方法	(40)
五、使用多规则质控方法步骤	(40)
六、失控情况处理及原因分析	(40)
七、室内质控数据管理	(41)
八、室内质控实际操作	(42)
九、使用患者数据的分析进行质量控制	(44)
第三节 室间质量评价	(46)
一、室间质量评价起源和发展	(46)
二、室间质量评价类型	(46)
三、室间质量评价计划的目的和作用	(47)
四、参加室间质量评价提高临床检验质量水平	(49)
五、研究不及格空间质评结果的程序	(50)
第四节 放射免疫技术质量控制	(51)
一、室内质量控制	(52)
二、室内质量控制具体操作	(53)
三、外部质量控制	(54)

四、放射免疫检测出现异常结果的因素分析	(54)
第五节 时间分辨荧光免疫分析技术质量控制	(55)
一、试剂质量控制	(55)
二、对工作人员培训	(55)
三、检测样本质量控制	(56)
四、检测环境的控制	(56)
五、仪器设备的质量控制	(56)
六、通过质控血清对实验过程及结果进行监控	(56)
第六节 化学发光免疫分析技术质量控制	(56)
一、人员因素	(57)
二、完整的作业指导书	(57)
三、合格的试剂	(58)
四、运行良好的设备	(58)
五、适宜的环境	(58)
六、化学发光免疫分析检测过程中质量控制	(58)
第七节 酶免疫测定技术质量控制	(59)
一、检测前质量控制	(60)
二、检测中质量控制	(61)
三、检测后质量控制	(62)

临床篇

第 6 章 垂体激素	(65)
第一节 促甲状腺激素	(65)
第二节 卵泡刺激素	(71)
第三节 促黄体素	(77)
第四节 催乳素	(82)
第五节 生长素	(87)
第六节 促肾上腺皮质激素	(92)
第 7 章 性腺激素	(97)
第一节 雌二醇	(97)
第二节 雌三醇	(102)
第三节 孕酮	(106)
第四节 睾酮	(109)
第五节 人绒毛膜促性腺激素	(115)
第 8 章 甲状腺激素	(124)
第一节 三碘甲状腺素原氨酸和游离三碘甲状腺素原氨酸	(124)
第二节 甲状腺素和游离甲状腺素	(130)
第三节 甲状腺球蛋白与甲状腺球蛋白抗体	(136)

第四节 抗甲状腺过氧化物酶抗体·····	(142)
第五节 促甲状腺激素受体抗体·····	(146)
第 9 章 甲状旁腺激素·····	(151)
第一节 甲状旁腺素·····	(151)
第二节 降钙素原·····	(154)
第三节 降钙素·····	(157)
第 10 章 类固醇激素·····	(162)
第一节 皮质醇·····	(162)
第二节 醛固酮·····	(168)
第 11 章 胰腺激素·····	(173)
第一节 胰岛素·····	(173)
第二节 胰岛素原·····	(178)
第三节 C 肽·····	(182)
第四节 胰高血糖素·····	(186)
第 12 章 肾素·····	(189)
参考文献·····	(194)

技术篇

第 1 章 放射免疫分析技术

第一节 概 述

放射免疫分析(radioimmunoassay, RIA)的问世,是定量分析技术一项划时代的进步,将微量生物样品检测化学分析法的最小检出量,由 μg 提高到 pg 级水平,从而为生物学基础的理论研究和临床实践提供了新的手段,为生物学的发展做出了举世瞩目的贡献。在 RIA 理论的基础上发展了一类非放射性标记免疫方法,如酶链免疫分析法(EIA)、化学发光免疫分析法(CLIA)、时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)、电化学发光免疫分析法(ECLIA)等,使特异性、灵敏度都得到很大提高,并且其标记物制备简易、有效期长,无污染,实现了自动化分析。

回顾 RIA 技术的发展历史,到目前为止,RIA 技术的发展概括起来历经了 5 代。Berson 和 Yalow 创建的竞争抑制免疫反应原理为标志的第一代技术,开辟了标记技术的先河,具有划时代的意义;第二代以抗原-抗体复合物和游离标记抗原分离技术为标志;第三代以利用半抗原制备抗体技术的建立为标志;第四代以单克隆技术应用和完善,以及许多固相载体材料的研制成功为标志;第五代以将纳米磁性微粒子作为载体,经共价键结合制备成固相抗体,最大限度地简化了操作程序,缩短了反应时间,并为全自动化检测创建了条件为标志。目前的第五代技术有下面 5 种模式。

1. 液相双标记 IRMA 技术 将两株 McAb 分别标记 ^{125}I 和异硫氰酸荧光素(fluorescein-isothiocyanate, FITC)作为标记试剂,检测时将样品和标记试剂加到试管中,温育后加入磁性固相抗 FITC, 5min 后置于磁性分离器上,洗涤后即可测量放射性。抗原和标记抗体在液相中反应生成双抗体夹心复合物,免疫反应达到平衡所需时间比固相试管法快速,各项技术参数均超过目前广泛应用的 IRMA 法。

2. 磁性固相第二抗体 RIA 竞争法 有两种不同的第二抗体可制成磁性固相,一种是制备抗第一抗体的二抗磁性微粒子固相作为分离剂,另一种是将第一抗体 IgG 标记 FITC, 抗 FITC 抗体和磁性微粒子结合作为分离剂,两种分离剂检测结果高度一致。与常规方法相比,不必加复合二抗分离剂以及离心沉淀分离步骤,简化了手工程序,缩短了时间,提高了精密程度。

3. 磁性第一抗体固相 RIA 竞争法 将第一抗体制成磁性微粒子固相,检测程序较磁性第二抗体分离剂更简便,可一步完成,只需将样品 ^{125}I 标记抗原和磁性微粒子固相抗体加到塑料试管中,温育后置磁性分离器上倾出上清液,经一次洗涤后即可测量放射性强度。这种模式非

特异性结合过高,降低了检测技术的灵敏度和精密度,影响检测的准确度。

4. 自身抗体快速检测法 血清中的抗体和¹²⁵I-抗原混合温育,生成抗原-抗体复合物,然后反应液中加入人抗人 IgG 磁性微粒子分离 5min,置于磁性分离器上,测其上清液放射性强度,放射性强度与血清中自身抗体量成正比。

5. 生物活性肽 IRMA 法 生物活性肽是一类相对分子质量为 $(2\sim4)\times 10^3$ Da 的肽类,参与多种生理代谢和相互调节过程,检测这类物质水平对研究心脑血管疾病的发生、发展及防治具有重要意义。生物活性肽在人血浆中以多种形式存在,既有前体物又有降解产物的片段。目前的肽类合成技术的完善以及 McAb 制备方法的改进,可提供 N 端和 C 端肽类化合物片段及相应的 McAb,可建立生物活性肽 IRMA 法测定技术。

放射免疫分析技术具有以下特点:

(1)灵敏度高。非竞争性模式的灵敏度高于竞争性模式,非竞争性分析是以抗体标记为前提的,但并非所有抗体标记的都是非竞争性分析。判别两类分析模式的标准是“结合位点占据”原则,当抗体进入测定系统时,被测物开始抢占抗体结合位点,所占位点的数量可以直接测得或间接测得;直接测得者称为非竞争性分析,间接测得者称为竞争性分析。直接测量结果的误差小于间接测量,故直接测量的灵敏度高于间接测量。

(2)特异性好。抗原抗体反应的特异性决定了 RIA 技术的特异性,非特异性免疫反应、非特异性免疫吸附都会影响 RIA 技术的特异性。

(3)应用广泛。目前已可测 300 多种物质,包括激素、肽类、药物和体内其他糖类抗原物质。

(4)放射免疫分析灵敏度高,但容易引起误差,在测定过程中影响因素较多,必须建立严格的质量控制来进行监控。

(5)具有放射性污染,半衰期短,试剂盒货架寿命短,仅可使用 1~2 个月,因此,在临床应用中越来越受到限制,将逐渐被其他非放射性标记技术所替代。但目前为止,RIA 法仍然用于测定某些激素等的“金标准”。在生物医学基础研究中,新的生物活性物质的发现日益增多,成为基础医学科中的热门课题。研究这些新的活性物质和某些疾病发生及发展的关系,需要建立高灵敏度、高特异性的检测方法,高度自动化的非放射性标记免疫分析方法,在生命科学实验中是不能取代 RIA 技术的。由此可以预测,在生物医学研究中,将不断面临对新的生物活性物质的检测,RIA 技术仍为首选方法。

放射免疫技术根据标记抗原与标记抗体不同,又分为 RIA 法和 IRMA 法两种。

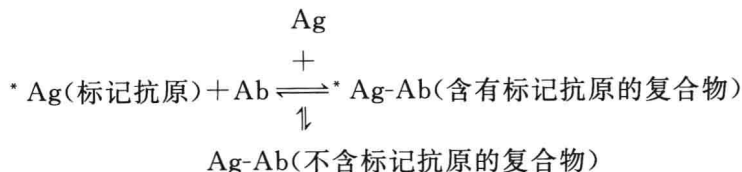
(王华新 李延伟)

第二节 RIA 法

一、原 理

放射免疫分析的基本原理是体外进行的两种类型(标记和未标记的)的同一种物质结合另一种物质的竞争性抑制反应。因此,在放射免疫分析中最初必定包含有标记抗原、非标记抗原和抗体,这种抗体和两种类型的抗原都能结合。

在放射免疫分析中,存在以下的反应体系:



* Ag(标记抗原)和其特异抗体 Ab 反应是正反应,产物为抗原抗体复合物(* Ag-Ab),反应是可逆的。若反应体系中同时存在未标记的抗原 Ag,则因* Ag 与 Ag 具有与 Ab 相同的结合力,当* Ag 和 Ab 的量保持一定时,且* Ag 和 Ag 的总和超过 Ab 的特异结合能力时,* Ag-Ab 复合物的形成将会随着 Ag 的增加而相应减少,* Ag 与 Ab 的结合被 Ag 竞争抑制。也就是说,在反应体系中 Ag 含量高,Ag 对 Ab 的结合就多,Ag-Ab 复合物形成就多,而* Ag-Ab 形成就少;反之,在反应体系中 Ag 含量低,* Ag-Ab 形成就多。因而,* Ag-Ab 复合物的形成量与 Ag 含量呈一定负相关的函数关系。

根据以上原理,在 RIA 反应体系中,以一系列已知浓度的标准品(Ag)与一定量的* Ag(试剂盒中已标记)和特异性抗体(试剂盒中已备)反应。待反应平衡后,加入分离剂分离,弃去上清液中游离的* Ag 和 Ag 及 Ab,测定沉淀于管底的* Ag-Ab 复合物的放射性强度。以放射性强度为纵坐标,标准品的系列浓度为横坐标,绘制成标准曲线。而样品中的 Ag 含量可用相同的方法测定,在标准曲线上查之可得。

二、反应体系

在 RIA 反应体系中,标准品的浓度、标记抗原(* Ag)、特异性抗体(Ab)、试管质量、实验条件(主要是反应温度)、分离剂、分离技术、标准曲线的制备与使用等问题在放射免疫分析中是十分关键的,以下较详细地进行介绍。

1. 标准抗原(标准品) 标准品要求与待测物质的理化性质、相对分子量、化学结构完全一致。经提纯,纯度越高越好,称量时越精确越好。依照 WHO 标准化专家委员会 1979 年建议应当建立国际标准、国家标准(行业标准)和企业标准三级参照物,以增加不同产品检测值的可比性。现阶段,国内 RIA 虽然部分产品建立了国家标准,但还不完善,故检出值尚缺乏可比性,给临床医师带来了许多困惑。

2. 标记抗原(* Ag) 标记物(示踪剂)的质量是影响试剂盒质量最重要的因素,它主要与标记物制备工艺和原材料有关。标记物的主要质量指标是高免疫活性、适度的放射比浓度及高稳定性。在 RIA 实验中以放射性核素标记高纯度抗原。常用¹²⁵I、³H 进行标记的。¹²⁵I 的应用最为广泛,因其具有标记简便、易于防护等优点。标记物制备工艺的多样化,各有其优缺点,目前多采用氯胺-T 氧化法。标记前体结构和分子量大小的差异,如不加区分地采用相同工艺制备标记物,应当是一个分子标记一个¹²⁵I 原子,标记比活性高将降低标记物免疫活性和稳定性,反之,稳定性较高可降低检测方法的灵敏度。采用氯胺-T 氧化标记要依据不同的标记前体理化性质制定出不同的标记条件和纯化方法。有此标记前体易受氧化剂的作用变性降解而易失活,可采用乳过氧化物酶或 Iodogen 等反应条件温和的试剂制备。标记抗原要求放射性比度高,可提高方法的灵敏度,放化纯度高,标记后抗原的免疫活性损伤小或不损伤,标记抗原的稳定性好,在一定条件下可稳定储存使用一段时间,而不改变活性。

3. 试管质量 近年来,推广试管固相 RIA 法是发展的方向。其主要优点是抗原和抗体反

应后经洗涤即直接测量试管的放射性,简化了操作程序,实现了一步法。包被管的质量是影响结果的主要因素。目前应用最多的是以聚苯乙烯为原料制成的专用试管,不同原料制成的试管吸附蛋白质量有较大差异。对每批试管包被蛋白的均一性必须做质量检验。检验方法是取包被抗体 IgG 管,加过量 ^{125}I 标记抗原,温育后洗涤,测放射性,批内 $\text{CV} < 3\%$ (10 例) 为合格。如采用仲氨基或琥珀酰亚胺基活化的包被管,以共价键结合法,试剂盒的质量必有显著提高。

4. 抗体 抗体(结合剂)是试剂盒中的重要组成部分。竞争法多采用多克隆抗体,双位点夹心法均采用单克隆抗体。用于制备抗体的抗原应具备一定的分子量、合适的异己性和一定的溶解度,即免疫原性与反应原性要好。如果是半抗原(仅具反应性),需用碳化二亚胺戊二醛等联结牛血清清蛋白(或其他载体蛋白),以利于诱导抗体产生。免疫动物一般选用家兔、豚鼠、山羊等,以有利于产生高质量的抗体为原则。注射前抗原要与佐剂(如福氏完全佐剂)充分乳化成油包水制剂。免疫注射的部位有背部皮内、足垫或淋巴结等,每周 1 次。大分子物质可在第 6~8 周采血测滴度;小分子物质要在第 16~24 周才可采血测滴度。

抗体的质量直接影响 RIA 方法的建立,质量标准主要是特异性和亲和力。特异性以交叉反应表示,抗体与靶抗原的类似物交叉反应越小,分析方法的准确性越高。亲和力以抗原抗体的平衡常数(K 值)表示, K 值越大,表示抗体对抗原的亲和力越大,越不易解离,测定结果就稳定、敏感、重复性好,当更换另一批号抗体时应和原抗体作质量对比。试管固相 RIA 对抗体质量有严格要求,因试管固相抗体抗原反应达到平衡的反应时间比液相要长,因为具有高亲和力的抗体,可以在较短时间内达到平衡,既缩短了温育时间,又可提高方法的灵敏度。

5. 反应温度和温育时间 抗原抗体反应达到平衡后,虽依赖于温度和时间,但与抗体的质量(亲和力)是直接相关的,所以不同批次的抗体所需温度和时间会有差异。有的抗原抗体在室温下 15min 即可达到平衡。因此,在建立放射免疫分析方法时,用不同温度和时间进行实验对照,以选择最适宜的条件。反应温度和温育时间应根据所测样品的浓度而定,所测样品含量高,抗血清亲和常数高,选择反应温度亦高,如 $15\sim 37^\circ\text{C}$ 温育,所需时间就短。这是因为抗血清亲和常数随反应温度的增加而降低,被测样品含量高时,要求灵敏度就不十分严格。如被测样品含量低,要求测定的灵敏度高,就必须采用 4°C 反应温度,反应时间应适当延长。

6. 分离剂 以双抗体分离剂应用最为广泛。该抗体以产生第一抗体的同种正常动物血清 IgG 免疫另一种动物体内产生的抗体(即第二抗体)作为分离剂。由于第二抗体能与第一抗体及其免疫复合物特异结合而沉淀,因此非特异性结合好,分离效果就好。采用第二抗体与聚乙二醇(PEG)合并使用,既保持了第二抗体的特异性沉淀作用,又具有 PEG 快速沉淀的作用,两者的用量均可以大大减少。

7. 离心 一般要求相对离心力 F 大于 $2\,000g$ ($F = 1118 \times 10^{-8} \times R \times N$, R 为离心半径, N 为转速)。离心时的温度、速度和时间应根据测定的物质而决定,有些物质的测定需低温离心,否则就会影响动力平衡。离心时间不足使分离不完全,但如果离心时间过长,离心机过热也可使沉淀中已结合的标记物重新游离出来,导致动力平衡左移,结合率下降。离心后移去上清液的操作过程最易引起误差,即“非特异性结合(NSB)”,是由于标记物的游离部分混到结合部分中去,对测定结果有较大影响。减少分离误差的方法:①严格遵照试剂盒说明书要求的条件进行温育和离心;②工作人员熟练分离操作技术,移去上清液时应防止将沉淀冲散,前后手法要

求一致;③反应管内壁要求光滑清洁,减少由管壁吸附引起的分离误差。试管固相 RIA 法可省略离心过程直接洗涤即可。

8. 标准曲线的绘制 以各标准管的放射性强度减去非特异性吸附管的放射性强度,再以“0”标准管(S_0)的放射性强度为 100%计算各管的结合率,然后以标准管的百分结合率为纵坐标,各标准管的浓度为横坐标,绘制标准曲线。分为手工作图法和公式计算法。

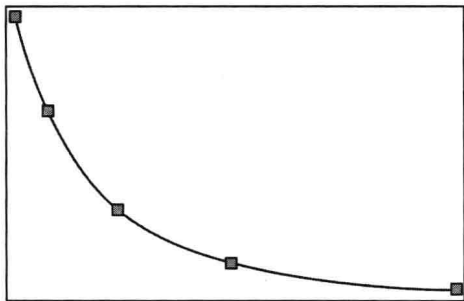
手工作图法又分为一般坐标法、半对数坐标法和全对数坐标法。一般坐标法就是在普通坐标纸上,横坐标为反应剂量,纵坐标为反应变量(常用的反应变量有 B/T 、 F/T 、 B/B_0 等)。在半对数坐标法中,横坐标取反应剂量的对数,而纵坐标仍取反应变量;全对数坐标法又称 Log-Logit 法,横坐标取反应剂量的对数,纵坐标取反应变量的对数。

公式计算法比较复杂,现已有自动 λ 放射免疫计数器上市,复杂的计算过程可由计数器软件去完成。以下以中国科技大学中佳公司 GC-1200 型 λ -放射免疫计数器为例,简要说明标准曲线的绘制(图 1-1)。

项目: T_4 (甲状腺素,RIA 法)
浓度单位 (ng/ml)

试管名称	标准浓度	CPM 值	反求浓度	B/B_0	DEV(%)
NSB		192			
B_0		20 190			
B_1	20	16 380	20.0	0.81	0.000
B_2	40	12 375	40.622	0.61	1.555
B_3	80	8139	80.835	0.40	1.044
B_4	160	5328	150.672	0.26	-5.830
B_5	320	3441	332.173	0.16	3.804

数字模型:可选择 Log-Logit、样条函数、3/2 次方程、Log 三次多项式、线性内插、四参数、五参数,本试验选择数学模型为四参数



数学模型: 四参数
相关系数: 0.999 68
ED75=29.0695
ED50=57.2901
ED25=156.9007
A=20 027.71
B=1.44
C=47.71
D=2293.43

图 1-1 T_4 测定标准曲线

评价标准曲线的拟和程度好坏有两种方法:一种是相关系数 $R^2 > 0.990$,另一种是拟和百分比偏差 DEV, $DEV < 10\%$,基本上满足 $R^2 > 0.990$ 。但是, $R^2 > 0.990$,不一定 DEV 全部小于 10%。若发现不符合以上要求,而实验数据又很好,说明拟和出了问题,要更换拟和方式。