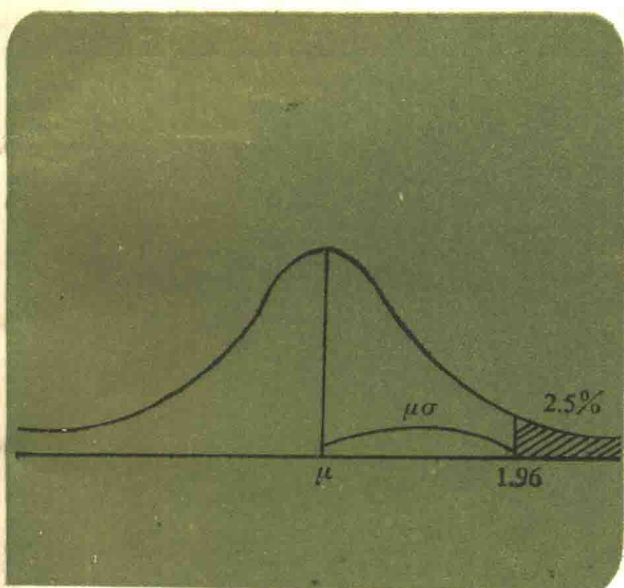


生物检定统计方法



$$z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

$$P \ z > 1 = 0.1587$$

$$P \ z > 1.96 = 0.0250$$

Z	0.00	0.01	0.02	0.03
0.0	0.5000	0.4960	0.4920	0.4880
0.1	0.4602	0.4562	0.4522	0.4483
0.2	0.4207	0.4168	0.4129	0.4090
0.3	0.3821	0.3783	0.3745	0.3707
0.4	0.3446	0.3409	0.3372	0.3336

周海钧等编著

人民卫生出版社

生物检定统计方法

周海钧 申蕴如 编 著
朱承伟 李君实

人 民 卫 生 出 版 社

内 容 提 要

本书是根据作者多年来在药品的生物检定中应用数理统计的原理和方法, 经过实践总结编写而成的参考书。

书中突出介绍生物检定中所特有的实验设计和数据分析方法, 对此有关的医学中常用的统计方法亦作适当介绍。

本书内容浅显易懂, 结合实际, 可供检验人员、医药卫生科研人员和药学院校师生参考。

责任编辑 孙祖基

生物检定统计方法

周海钧 申蕴如 编著

人 民 卫 生 出 版 社 出 版

(北京市崇文区天坛西里 10 号)

四 川 新 华 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 $14\frac{1}{2}$ 印张 332千字

1983年9月第1版 1983年9月第1版第1次印刷

印数: 00,001—10,000

统一书号: 14048·4440 定价: 1.80元

〔科技新书目51—70〕

前 言

生物检定在药品质量控制、医学科学研究中占有重要地位。由于它是从定量的角度研究量和反应的关系，因此其实验设计、数据处理不但贯穿着数理统计的一般原理和应用，而且还包括了对比试验中所特有的一套试验设计和数据分析方法。鉴于目前国内还没有一本系统的专著，我们根据多年从事生物检定工作的实践体会，编写了这本重在实用的参考书。

作者1979年在浙江嘉兴举办了全国药检系统生物统计讲座，以后又逐步充实了一些新的内容，1981年初卫生部药典委员会在苏州召开了生化委员会，决定生物统计要作为质量控制的工具载入新版药典，故在内容上又增加了新版药典的生物统计部分。

本书共分十一章。一～四章是讨论生物检定和统计的一些基本概念，五～六章是医学中常用的统计方法，七～十一章是生物检定的统计方法。全书各章内容都力求结合生物检定统计方法的需要。为了便于阐明某些论点，书中少量例题，已经作者修改，不能用作科学结论的依据。

本书由周海钧写一、二、三、四章和五章的一部分，申蕴如写八、十一章，朱承伟写五、六章和一章的一部分，李君实写七、九、十章，最后由周海钧统稿。由于我们的知识和经验有限，本书中肯定存在不少缺点和错误，望读者批评指正。

本书在编写过程中，得到朱斐斐、柯若伦、吕志筠等同志的协助，特此致谢。

作 者

目 录

前言	[6]
第一章 绪论	1
第一节 生物检定的由来和发展	1
第二节 生物检定的作用	2
第三节 效价单位与标准品	4
一、效价单位的含义	4
二、国际标准品与国家标准品	5
三、标准品原料选择的原则	5
四、标准品的种类	5
第四节 生物统计与生物检定的关系	6
一、生物统计的意义	6
二、生物统计在生物检定中的特殊地位	6
三、应用生物统计时应注意的问题	7
第五节 统计符号	8
第二章 概率及其直接应用	11
第一节 引言	11
第二节 概率的定理	11
第三节 概率定理的直接应用	13
第三章 抽样和分布	18
第一节 样本与总体	18
第二节 随机化	18
第三节 抽样方法	19
第四节 样本大小	20
第五节 随机变量	21
第六节 二项分布	21
第七节 正态分布	22
第四章 误差	26
第一节 正确性、精密度、偏倚	26
第二节 实验误差的来源和减少实验误差的基本法则	27
第三节 从样本均数估计总体均数	28
第四节 可信限在质量控制中的应用	31
第五节 估计标准差、估计标准误和可信限的具体运用	32
第五章 显著性测验	35
第一节 显著性测验的基本概念	35
一、显著性测验的意义	35

二、测验假设	35
三、显著性水平	36
四、双侧测验和单侧测验	36
五、两类错误	37
六、显著性测验的测验能力	37
第二节 t 测验	40
一、 t 测验的原理	41
二、 t 测验的步骤	41
三、成对数据的 t 测验	41
四、成组数据的 t 测验	42
五、两百分率间的比较	44
第三节 F 测验 (方差分析)	45
一、 F 值的意义	45
二、 F 分布	45
三、 F 测验的原理	46
四、 F 测验的步骤	46
五、单因素的 F 测验	46
六、双因素的 F 测验	53
七、拉丁方的 F 测验	59
第四节 χ^2 测验	60
一、 χ^2 值的意义	60
二、 χ^2 分布	61
三、 χ^2 测验的原理	62
四、 χ^2 测验的步骤	63
五、两样本频数的比较 (四格表)	63
六、 χ^2 值的连续性校正	64
七、 χ^2 值的可加性	65
八、两组以上频数的比较 ($2 \times k$ 表)	68
九、两事物间联系性的测验 ($m \times k$ 表)	69
十、配对计数资料的 χ^2 测验	69
第五节 显著性测验中应注意的问题	70
第六章 回归与相关	72
第一节 回归	72
一、回归的意义	72
二、回归与相关的区别	72
三、回归的用途	72
四、直线回归方程	72
五、回归系数的显著性测验	74
六、两个回归系数间的显著性测验	76

七、直线性测验·····	77
八、直线回归的可信限 ($P = 0.95$)·····	81
第二节 相关·····	82
一、相关系数的意义及计算·····	82
二、相关系数的显著性测验·····	84
三、两个相关系数间的显著性测验·····	85
四、求几个相关系数的平均值·····	86
第七章 剂量与反应的关系 ·····	87
第一节 概述·····	87
第二节 质反应·····	88
一、概率单位 (Probit) 转换·····	90
二、logit 转换·····	91
三、角 (angle) 转换·····	91
第三节 量反应·····	92
一、对数剂量与反应呈直线关系·····	92
二、对数剂量与对数反应呈直线关系·····	93
三、量反应坐标转换的其他方法·····	93
四、剂量本身与反应呈直线关系·····	93
第四节 剂量与反应的回归直线, 斜率的意义与精密度指数·····	97
第八章 生物检定方法, 实验设计与误差估计 ·····	99
第一节 对比检定·····	99
一、效价 (或毒力) 对比检定的基本概念·····	99
二、效价 (或毒力) 对比检定的误差估计·····	100
第二节 直接测定法·····	101
一、随机设计·····	102
二、配对交叉设计·····	106
三、直接测定法的评价·····	110
第三节 量反应的平行线测定·····	110
一、平行线关系·····	110
二、平行线测定法求等反应剂量的计算原理·····	111
三、直线的平行化·····	111
四、平行线测定的实验误差估计·····	112
五、平行线测定的可靠性测验·····	113
六、影响实验误差的因素探讨·····	115
第四节 量反应平行线测定简算法·····	119
一、平行线测定简算法对实验设计的基本要求·····	119
二、简算法公式·····	120
三、其他简算方式·····	132
第五节 量反应平行线测定常用的几种实验设计类型·····	135

一、完全随机	135
二、随机区组	135
三、交叉设计	143
四、拉丁方设计	149
第六节 质反应的平行线测定	153
一、概率单位法及其应用	153
二、简化概率单位法	158
第七节 量反应的平行二次曲线测定	166
第八节 选择应用平行线测定和平行二次曲线测定的问题	168
第九节 斜度比例测定	174
一、斜度比例法的效价计算原理	174
二、斜度比例法效价计算的简算及其误差估计	175
第九章 实验结果的合并处理	177
第一节 加权平均的概念	177
第二节 标准品协作标定结果的合并计算	178
第三节 常规检定中的合并计算	180
第十章 半数反应量的意义及测定方法	182
第一节 基本概念	182
第二节 LD_{50} 的测定方法	182
一、第一种类型(改进寇氏法、移动平均法)	182
二、第二种类型(最大或似法、加权回归法、简化概率单位法)	185
三、第三种类型(阶梯法)	191
第三节 两 LD_{50} 间的比较	193
第四节 LD_{50} 与治疗指数	193
第五节 测定 LD_{50} 应注意的问题	194
第十一章 中国药典应用生物统计的回顾与瞻望	196
一、中国药典为什么要应用生物统计	196
二、中国药典应用生物统计的概况	196
三、可靠性测验和误差估计在生物检定中的作用和重要性	197
主要参考书刊	199
附录	
I. 国际标准品与国家标准品一览表	201
II. 质反应的理论概率(按二项分布计算)	207
III. 随机数字表	211
IV. 正态分布表	212
V. t 值表	214
VI. F 值表	215
VII. Q 值表	216
VIII. χ^2 值表	217

IX. 相关系数 r 的显著性水平表	217
X. 相关系数 r 转换成 Z 值表	218
XI. 百分率与概率单位转换	218
XII. 概率单位的权重系数	218
XIII. 0%或100%反应率的概率单位近似值和权重	219
XIV. 作业概率单位的极大值、极小值、全距与权重系数	219
XV. 百分率与角转换	220
XVI. 作业角度的极大值、极小值与全距	221
XVII. 百分率与 logit 转换	222
XVIII. 作业 logit 的极大值、极小值、全距与权重系数	223

第一章 绪 论

第一节 生物检定的由来和发展

生物检定是利用生物体（动物整体或离体组织，微生物等）来测定药物的生物活性或效价的一种方法，它以药物的药理作用为基础，以生物统计为工具，运用特定的实验设计，通过供试品和相当的标准品或对照品在一定条件下比较其产生特定生物反应的剂量间比例，从而测得供试品的效价。

生物检定是一门较老的学科，是药理学的一个分支，也可被认为归之于定量药理学的范畴。很早以前，药理学家为了要弄清某些药物的作用强度，就设法以药物对生物体所产生的反应强度来表示其效价，例如洋地黄对治疗心力衰竭有很好的疗效，但却由于各批洋地黄的作用强度很不一致，临床上很难确定一个合适的剂量，同样的用量，有时显得效力不足，疗效不佳，有时却又显得效力过高，出现中毒。为了能预先确定各批洋地黄的效价强度，有人就利用洋地黄能使青蛙死于心室收缩期停止这样一个生物反应，建立了早期的洋地黄蛙法生物检定，即以能使青蛙死于心室收缩期停止的按每克体重所需的洋地黄用量，称为洋地黄的一个蛙单位。又如胰岛素，也有人建立了早期的胰岛素兔法生物检定，以能使家兔血糖下降至 $45\text{mg}/100\text{ml}$ 血的胰岛素最低用量称为胰岛素的一个兔单位，这就是以“动物单位”来表达药物效价的早期的生物检定。

这样虽然初步有了一定的效价表示方法，但由于一个药物往往可用几种动物来检定，各地的生物检定方法也不统一，以致一个药物定了好几个动物单位，如洋地黄有蛙单位、猫单位，胰岛素有兔单位、鼠单位等，这样也造成一些紊乱，例如一个洋地黄猫单位和一个洋地黄蛙单位相比，究竟效价相差多少？这种不同的动物单位表示法往往使临床医师无所适从。在不同的动物单位之间又没有相互换算的方法，即使是用一种动物单位来表示的效价，也往往由于检定的时间、地点、条件、动物来源等因素的不同，所测得的结果也不尽相同，例如某批洋地黄国际标准品，曾经在两年的时间内共测定过 20 次，各次的结果差异很大，最低结果测得每克含 1310 个蛙单位，而最高结果测得每克含 3300 个蛙单位，两者相差达两倍多。但事实上该标准品保存了多年也没有变质，显然，这种用“动物单位”来表达药物效价的方法，存在着很大的缺陷。

1897 年 Ehrlich 氏提出了与标准品对比的效价表示方法，即在相同的实验条件下，以同样的实验方法测得标准品与供试品产生相同生物反应时的剂量比例，作为供试品相当于标准品的效价倍数。他于 1914 年第一次制出白喉抗毒素的对照标准品，并以供试品与标准品在相同的实验条件下，比较它们产生相同反应的剂量，以计算供试品相当于标准品的效价强度。这种方法明显地缩小了由于生物差异性所引起的测定误差，它不同于“动物单位”以绝对效价来表示，而是以与标准品比较的相对效价来表示。在不同的实验室里检定同一药物时，即使实验条件和影响因素有些不同，但对标准品和供试品起着同样的作用，在对比检定时可使这些影响因素彼此抵销，因此它们之间的强度比例也依然保持不变，这就大大提高了生物检定的可靠性和精密度。从此，人们彻底改变了过去

以“动物单位”来表示效价的概念，而以对比检定和标准品的概念奠定了现代生物检定的基础。

第二节 生物检定的作用

人们对生物检定往往有这样的印象，精密度差，操作繁琐，不易掌握，又费动物，在科学技术飞速发展的今天，似乎有被淘汰的趋势，实际上这种看法是片面的。生物检定是人们认识事物本质的方法之一，它帮助我们从小生物反应这个侧面来了解某些事物的质和量，所谓精密度和操作繁琐是相对的，且在生物检定的方法中也有些是精密度好，操作简便，灵敏度高而为人们所乐于采用的。即使某些精密度较差、操作繁琐的方法，它之所以能存在，也都有它的客观原因，往往是由于目前尚无代替它的理化检验方法或其他原因而必需采用生物检定。就整个检定方法来说，生物检定客观上起着理化检验的补充和不足的作用。一些原有品种的生物检定方法可能被理化检验所置换，但一些新的品种的生物检定方法又在不断建立中，随着科学技术的发展，生物检定也正在不断吸收新的内容、新的技术和发挥新的作用。

近年来，生物检定在医药学方面的作用大致可归纳成以下几个方面：

1. 药物的效价测定 这是生物检定的基本用途。对一些理化方法不能测定含量的药物可应用生物检定来控制药物的质量，即通过供试品和相当的标准品在一定的条件下进行比较，以定出供试品的效价。中国药典（1977版）收载了洋地黄、胰岛素、肝素、绒毛膜促性腺激素、催产素、硫酸鱼精蛋白等生物测定法。还收载了各种抗菌素的微生物效价测定方法。

除了上述一些药典收载的品种外，有些新药经系统的理化特性和药理学、毒理学研究后，被推荐到临床试用，但由于结构复杂，一时尚难找到合适的理化检验方法来控制质量，也可以按照生物检定的原理，从系统的药理作用中选择一种能代表临床疗效或毒性反应的指标，建立一个控制质量的生物检定方法。

一些天然药物、生物制品等往往由于结构复杂或其中包含着不定比例的多种成分，难以应用理化检验，也只能应用生物检定。即使是理化性质清楚，结构已知的药物，也会由于结构构型不同，对药理活性的影响很大，也不得不采用生物检定来控制质量。一些合成的激素更是如此，例如合成的催产素是一种八肽，合成的加压素也是八肽，要有区别的来控制质量就不是理化检验所能胜任的，又如丘脑促黄体生成释放激素（LHRH）是十肽，1971年才从下丘脑提取液中被分离出来，现在已能人工合成作为药品，而英、美药典也都采用生物检定来控制效价。

2. 检验方法的核对 某些药品虽然理化性质已比较清楚，也已建立了较为灵敏稳定的理化检验方法，但这些方法是否可靠却常常要用生物检定来核对。这是因为生物检定反映了药品的生物活性，在很大程度上是与临床的效价相一致的，而某些理化检验却只反映出药品的某一方面理化性质，它并不一定与临床的效价相一致。例如肝素的测定可利用肝素使天青A变色的反应来进行比色法测定，方法灵敏、快速而稳定，但却不能反映其抗凝血的活性，一些抗凝血作用已失活的肝素却仍保留了使天青A变色的作用，因此天青A比色法只能用作参考，正规的检定仍要用生物检定。又如激肽释放酶（血管舒缓素）的效价测定曾用狗或猫血压下降为指标的生物检定方法，以后出现了以苯甲

酰-L精氨酸乙酯 (BAEE) 为底物的分光光度法, 也有以 TAME 为底物的荧光光度法, 灵敏度和稳定性都很好, 但在考验其与药理性质是否一致时, 却仍需用生物检定来核对。

3. 新药的寻找及其活性研究 当前寻找新药的一个重要途径是利用动植物为原料, 在提取天然活性物质的基础上, 用人工方法合成一系列的类似物, 然后比较各种类似物的生理活性, 以决定各种类似物的取舍及进一步合成的方向, 或阐明其构效关系。这不但需要比较并确定它们的主要药理作用的效价, 还常要比较其毒副作用的强弱。例如在合成抗胆碱药时, 往往以其周围抗胆碱作用为治疗目的, 而不需要它的中枢作用, 就可用生物检定方法来对比它们的周围作用和中枢作用。又如蛋白同化激素是从雄激素的结构中分化出来的, 临床要求分化得越专一越好, 这就要求运用生物检定的方法从一系列的合成衍生物中来测定哪些是蛋白同化作用最强而雄激素作用最弱的化合物。

多肽激素是一类具有很强生理活性的重要药物, 目前除了从天然物中提取分离外已能利用生化方法来合成多种多肽激素, 但这些多肽中氨基酸的组成及其排列顺序对生理活性差异很大。例如精氨酸加压素 (AVP) 的抗利尿作用与升压作用比较接近, 一般为 0.9:1。但如将其一位氨基酸去氨基, 第八位精氨酸的 L 构型改为 D 型使成 1-deamino-[8-D-Arginine]-Vasopressin (dDAVP), 则抗利尿作用增加约三倍左右, 而升压作用大大减弱, 使抗利尿作用与升压作用之比为 2000:1; 如将其一位氨基酸去氨基、第四位谷氨酸改为缬氨酸、第八位精氨酸的 L 构型改为 D 型使成 1-deamino-[4-Valine, 8-D-Arginine]-Vasopressin (dVDAVP), 则抗利尿作用增加约四倍, 而升压作用几乎难于测出, 使抗利尿作用与升压作用之比约 125000:1。AVP 在临床上主要用作抗利尿药, 升压作用是它的副作用, 由于结构改变, 大大增加了临床的疗效, 而减低了副作用。

又如 LHRH 类似物的合成, 稍加改变一、二个氨基酸, 可使释放 LH 的活性增加 150~1000 倍。

这些工作往往很难用理化检验来代替, 只能借助于生物检定。

4. 神经介质、激素及其他微量生理活性物质的测定 在活体组织中测定一些神经介质、激素或其他微量生理活性物质的浓度是生理科学研究中常用的手段。虽然也发展了很多的理化检验方法, 但正由于这些物质具有很强的生理活性, 用生物检定来测定这些物质, 一般都有较高的灵敏度, 有些甚至超过目前的理化检验方法; 并且生物检定一般对试样的纯化要求低, 一些组织液可以直接用来测定而不受干扰, 在样品的处理上较理化检验的要求低, 还可以用一些专一的拮抗剂来阻断其他类似物的作用, 使测定更具有药理上的专一性; 因此在一些作用机制研究中往往采用生物检定的方法。

Vane (1957) 用在位大鼠胃的制备, 可测出神经组织释放的 5-HT, 灵敏度达 0.05ng, 这是当前各种测定 5-HT 方法中灵敏度最高的一种。还可利用麦角酸类似物作为拮抗剂来显示测定的专一性。

乙酰胆碱是胆碱能神经冲动时释放的介质, 具有十分重要的生理意义, 微量乙酰胆碱的测定可用来研究许多生理活动的机制。Gaddum (1964) 用一个改良的微型浴槽, 用水蛭背肌可定量地测出神经冲动时所释放的微量乙酰胆碱, 并可用箭毒予以拮抗, 以验证乙酰胆碱测定的专一性。

测定尿中胃激素 (Gastrine) 和尿胃素 (Urogastrone) 的含量是研究胃功能的重要方法, 前者促进胃液分泌, 后者抑止胃液分泌。Smith 和 Lawrence (1970) 利用大鼠

在体胃回流循环装置,以胃液的 pH 改变为指标,可测出 50~100ml 人尿内 10~20ng 的胃激素和尿胃素。

另外如用大鼠离体子宫测定缓激肽可达 0.2ng/ml 的灵敏度,测定前列腺素 F_{2c} 可达 5ng/ml 的灵敏度。用豚鼠离体回肠测定慢反应物质可达 1ng 的灵敏度,测定脑啡肽、组织胺等灵敏度亦很高。

5. 中药的质量控制 中药的成分复杂,其有效成分很多尚未弄清楚,难以用理化的方法加以控制,但可以用一些与疗效一致的药理作用为基础,应用生物检定方法来控制。这方面工作虽然目前做得尚不多,但已引起国内外的注意,我国学者楼之岑(1951)就利用小鼠服植物性泻剂后排出湿粪这一原理,建立了植物性泻剂的生物检定方法,小鼠服药后所排出的湿粪数与其对数剂量呈直线关系,可按平行线原理,用 2·2 法(对照品与供试品各二个剂量)或 3·3 法(对照品与供试品各三个剂量)来比较大黄、番泻叶等植物性泻药的泻下作用强度。

6. 农药残留量测定 由于农药应用量日益增大,造成环境污染,因此对食品、农产品及药材中农药残留量的问题,已引起各界的注意。如何合理的控制农药残留量的限度,是贯彻预防为主,保证人民身体健康的重要措施。当前虽已研究出测定农药残留量的各种理化方法,但对样品处理和仪器精密度的要求都较高。Steurbant 等(1978)利用农药对昆虫的特异毒性,以蟑螂的心脏跳动的频率变化为指标来测定试样中的农药残留量,灵敏度很高。

第三节 效价单位与标准品

一、效价单位的含义

效价单位是生物检定中表达药物效力强弱的一种公认的计量单位,每种对比用的标准品都有它法定的效价单位含义,以资统一。

有些标准品效价单位的定义仍沿用过去“动物单位”的原有含意,如胰岛素单位为能使一定条件的实验家兔血糖下降到 45mg/100ml 血(通常为惊厥阈)所需胰岛素的最小量,称为一个胰岛素单位。有些则经协议规定一定重量作为一个效价单位,如双氢链霉素是属于重量单位,规定每 μg 砵相当于 1 个 IU,如折合成纯硫酸盐,则 1 μg 双氢链霉素硫酸盐应相当于 0.799IU。又如脑垂体后叶中子宫收缩素的效价定为每 0.5mg 相当于一个效价单位。

上述这些效价单位的定义,无论是用何种方法确定的,凡一经确定,以后就不再变动,且原来确定单位的叙述亦不再起作用了,这时所谓一个单位仅有效价上的相对意义,即供试品与标准品对于某生物体产生相同的反应时,供试品的用量就可以用相应标准品的效价单位数来标示,即每单位的供试品或标准品有产生相同的某一个生理反应的含义。

随着科学技术的发展,制品的纯度可越来越高,但效价单位的含义却依然不变,而是将单位重量内所含的效价单位数不断提高。如 1966 年发布的第二次双氢链霉素硫酸盐国际标准品为每 mg 相当于 820IU,折合成砵则为 0.974 μg 相当于 1 个 IU,超出了原来以重量表示的单位定义(1 μg 相当于 1 个 IU),这时一个国际单位已经失去了重量的

含义,而只表示对枯草杆菌的抑菌强度与原来标准品 $1\mu\text{g}$ 相等而已。由于第二次双氢链霉素硫酸盐的国际标准品的单位是根据前一次国际标准品标定出来的,故每一个单位的抑菌效力前后都是一致的。供试品不论与那一次国际标准品对比,其所标示效价的抑菌效力是相同的。

二、国际标准品与国家标准品

第一次世界大战后,随着标准化科学的发展,各国对统一制备药品和生物制品标准品的呼声愈来愈高,国际联盟首先承担了这项任务。具体工作由丹麦哥本哈根血清研究所及英国伦敦国立医学研究院(现已从该院分出成立英国生物标准检定所)负责。国际联盟撤销后,新成立的世界卫生组织(World Health Organization)设置了生物标准化专家委员会,继续负责此项工作,具体工作仍由原指定的丹麦和英国两个单位承担。国际标准品的单位数是由世界卫生组织邀请有条件的国家检定机构或药厂协作标定后,由生物检定专家委员会最后通过决定的。我国从1976年起也参与了部分品种的国际协作标定。

国际标准品制备量有限,主要是供各国在标定国家标准品时作对照使用,不宜用在常规检验和具体科研工作中。我国从1952年开始建立药品、生物制品国家标准品,由中华人民共和国卫生部审定,具体工作由卫生部药品生物制品检定所统一负责。会同全国有关单位共同进行选择、分装、协作标定、确定效价单位等,并统一向全国检定、科研、教育、生产单位分发。凡是国际上已制备国际标准品的品种,在制备国家标准品时,均与国际标准品比较而定出效价,对于我国特有的品种则根据一定的原则自定效价单位,一般情况下新标准品开始生效后,上一批标准品即停止使用。

标准品必须能久贮不变质,一般制成干燥粉末,熔封于装有惰性气体或真空安瓿里,或准确定量分装后冷冻干燥。标准品最好置于 -20°C 避光保存。

三、标准品原料选择的原则

标准品的原料选择,应该考虑到国内生产的同品种的具体情况,如提取原料的动物种属,制品纯度等。要尽可能使标准品在性质上与供试品相对的一致性,所以衡量大部分生物检定中标准品的质量,不应以纯度的高低和单位重量内效价的高低作为指标,而主要应视所定效价单位的精确度和在性质上与供试品的相对一致性的程度来作评价,这一点与我们经常使用的化学对照品和基准物的概念是不同的。这是由于标准品与供试品性质不相同,对于微生物、动物或器官组织在不同时间和其他不同实验条件下,所产生反应程度不尽相同,换句话说,微生物、动物或器官组织对不同质的药品其敏感度有差异,就必然得出不真实的检定结果。

四、标准品的种类

国际上分为国际标准品(International Standard)、国际参考品(International Reference Preparation)、国际生物参考试剂(International Biological Reference Reagent),国家标准品基本上亦按以上分类。具体品种详见附录 I,各种标准品名称及含义如下:

1. 国际标准品 其国际单位是在广泛的国际协作标定的基础上定出来的。通过一定

的生物检定方法,以原有的国际标准品的效价单位为基准,测得的效价以国际单位表示。在某些品种第一次定国际单位时,一般其效价单位的含义是由主观决定的(如定 $1\mu\text{g}$ 为一个单位等)。通常标准品原料的选择,要通过不同的检定方法,在若干实验室进行协作标定,以决定它是否适宜为国际标准品。

2. 国际参考品 可用于类似国际标准品的目的,但是没有象建立国际标准品那样事先进行过充分的国际研究,有时通过国际协作标定的实验结果还不足以证明它是否适合作为国际标准品。

有些国际参考品亦用于其他目的,如白喉抗毒素国际参考品用以测定絮状反应,长效青霉素国际参考品用以测定人体血液中的青霉素浓度,霍乱抗原国际参考品用以制备霍乱特异血清。

3. 国际参考试剂 系供特定实验室作微生物鉴定用,它们对有关微生物有高度特异性,如抗钩端螺旋体血清,以及鉴别病毒用的特异抗血清等。

第四节 生物统计与生物检定的关系

一、生物统计的意义

在客观世界里普遍存在着一些人们尚无法利用“因果关系”加以严格控制或准确预测的现象,这种现象是属于偶然性质的,我们虽不能用简单的定律来加以概括,但都可从大量的观察中运用数理统计这一工具,归纳出一些规律性的认识来。因此数理统计已被广泛地应用于生产、科研、文教卫生等各个方面,几乎遍及各个学科分支和各个部门,数理统计已逐渐作为一门基础学科而受到重视。

由于医药学研究的对象是生物,生物具有较大的差异性,就更需要依靠数理统计的知识予以综合和分析,因此,逐步形成了专门以生物为对象的数理统计分支,称为生物统计。

生物差异性是由许许多多内外因素偶然性的配合而引起,不论这些因素多么错综复杂,我们还是能以许多偶然配合的因素中借助于生物统计找出规律性的东西来。规律是客观存在的,偶然性的背后潜伏着必然的联系,只有对这种偶然性本身加以认识并掌握,才能从偶然出现的表面现象中揭示出其中必然性的规律来。例如各个家兔之间血糖值的差异,就是能对家兔起作用的各种内外因素影响的综合结果。经过实验研究和统计分析,已证明胰岛素的分泌量及其调节机制对家兔个体血糖值起着决定性的影响,于是“家兔血液中胰岛素的浓度”就是造成家兔血糖值变异的规律性因素之一。由此可见,统计方法是认识各种现象的数量特征的重要工具,正确地运用统计分析,能够帮助我们正确认识事物客观存在的规律性。

二、生物统计在生物检定中的特殊地位

生物检定是利用活性物质对生物所致的各种反应,从定量的角度研究剂量和反应间的关系。由于生物差异性的普遍存在,因此在生物检定中不论是实验设计,操作程序还是结果计算及由此而得出的推论,无不贯穿着数理统计的一般原理及其应用,如差异规律及其分布、概率、显著性水平、回归、线性关系、方差分析等,此外由于在很多情况下

采用了对比设计, 因此还包括了对比试验中所特有的一些试验设计和计算方法, 如平行线原理, 误差的一些特殊估计方法等。统计学家 Finney 氏认为, 由于生物检定贯穿了各种重要的统计原理及其应用, 它是在应用统计学领域中对学生最具有教育意义的一门学科, 只有正确地应用统计的原理进行实验设计、数据处理和统计分析, 才能做到用最少量的动物, 最经济的时间和方法, 得到最可靠的结果。本书的重点是结合各种类型的生物检定来探讨生物统计在各个环节中的应用。

三、应用生物统计时应注意的问题

生物统计的基础是以辩证唯物主义为指南的概率论, 因此首先要求我们把一些有关概率的基本概念弄清楚, 并且对由此而导出的计算公式的一般概念和原理有正确的理解, 所以如果单纯追求计算方法和演算技术, 不正确掌握其概念和原理, 结合具体的问题加以认真思考, 而机械地乱套统计公式, 将会导致错误的结论。因为所有导出的公式都是有一定条件的, 如果实验的具体情况不符合这些条件, 则任凭数字算得如何精细, 其结果都毫无价值。

其次, 我们在运用统计时, 既要防止统计万能论, 又要防止统计无用论。如果不顾条件和具体情况, 一切只求通过统计, 认为只要它点了头, 便深信不疑, 这种想法是有弊无益的。生物统计只能帮助我们分析认识问题, 而表现问题本质的还是要依靠科学实验本身, 所以良好的实验设计是正确运用统计的先决条件。如果只有极少的实验数据, 也要通过统计分析来显示一下自己的实验结果是通过数理论证的, 这就变成玩弄数学游戏了。相反, 认为统计无用亦是错误的。持有这种观点者认为, 一切都要大量地重复, 用大量实验数据来代替统计推理。对于即便可以用少量实验的内部数据得出较确切的结论时, 也不相信, 只相信大量重复的结果, 这也是劳民伤财, 不注意经济效益。再则, 由于季节、温度的影响, 药品来源或批号的变动, 实验人员调动的频繁等, 大量地重复实验反而使结果掺杂更多不易控制的因素, 这样的实验结果, 即使有大量数据, 也难于得出可靠的结论。以上这两种倾向都是应该防止的。

另外还要注意统计的推论务必结合专业知识和资料的来源。例如为研究安乃近注射液的质量优劣与临床不良反应的关系, 试以甲醇不溶物为指标, 从临床发生反应的 30 批次分别检查其甲醇不溶物, 结果如下:

表 1-1 临床发生反应的 30 批安乃近注射液的分析结果

甲醇不溶物 (ppm)	临床反应批数	反应率 (%)
10 以下	3	10
10~70	6	20
70 以上	21	70

从表 1-1 结果, 粗看起来似乎甲醇不溶物愈多, 反应率也愈高。能否认为安乃近临床不良反应与安乃近注射液中甲醇不溶物有关呢? 这是不能的。这里的关键是资料的来源问题, 因为所分析的 30 批安乃近都是临床有反应的批次, 不能代表已出厂的安乃近产品的总体, 也没有掌握不发生临床反应的安乃近批次中甲醇不溶物的含量情况。如果安

乃近出厂的产品中含甲醇不溶物 10ppm 以下的批次很少，而大部分产品均在 70ppm 以上，那么，我们可以将临床有反应的 30 批安乃近看作是从出厂产品中抽得的样本，出厂产品与临床有反应的批次中甲醇不溶物含量的比例相当，结论应是安乃近注射液临床反应与其中甲醇不溶物含量无关。

最后，统计学下的结论都是在一定概率条件下的。因此，对所做出的判断就不可能有绝对的把握。当测验两药疗效有无差别，而计算所得的概率相当于 0.05 时，即表示有 95% 的把握可以估计实验结果有差别，但同时也说明还会有 5% 估计错误的可能性，因此，在下结论时，应该根据具体情况，考虑专业知识慎重斟酌。

第五节 统计符号

- a 直线回归方程截距
- b 回归系数
- C_i 正交多项系数
- C_n^r n 个事物取 r 个组合
- CV 变异系数
- d 剂量
- e 自然对数的底 (2.7183)
- f 自由度
- FL 可信限
- g 回归显著性指数
- i 各种符号的足序
- I 相邻高低剂量比值的对数
- k 剂量组数
- K 方差分析中剂量组的总数
- ln 自然对数 (以 e 为底)
- log 常用对数 (以 10 为底)
- m 半数反应量的对数值
各剂量组的反应数或动物数
- m_s 标准品各剂量组的反应数或动物数
- m_T 供试品各剂量组的反应数或动物数
- N 反应总数或动物总数
- N_s 标准品的反应总数或动物总数
- N_T 供试品的反应总数或动物总数
- O χ^2 测验中的观察值
- P 概率
- P_s 标准品的已知效价
- P_T 供试品的效价
- p 质反应中的阳性率 (r/n)
- q 质反应中的阴性率 (1-p)