

3. 除了本文介绍的 logrank 检验, 还有一些非参数统计方法可以采用。如 Gehan 氏 Wilcoxon 型检验 (主要用在两组比较)、Prentice 氏 Wilcoxon 型检验、Breslow 氏 Kruskal Wallis H 检验 (多组比较)、Tao-ne-Ware 广义 logrank 检验等。这里简单介绍一下 Gehan 比检验 (score test)^[17, 18] 统计量的计算, 它也是生存分析中常用假设检验统计量, 用下式计算:
$$U = \sum_{k=1}^k [a_k \times d_k] / \left[\frac{n_1 n_2}{(n_1 + n_2)(n_1 + n_2 - 1)} \sum_{m=1}^k \sum_{k=1}^k [a_k^2 \times d_k] \right] \quad (8)$$
 截尾数据点 $a_k = S(t_k) - 1$, 非截尾数据点 $a_k = S(t_k) + S(t_{k-1}) - 1$ 同样, 若是截尾数据点, d_k 要以截尾例数。利用标准正态分布可做假设检验。上

式中的分子即为各组所有时间点上得分的和。多组比较时的公式类似于 (6) 式。

4. 如何选择使用这些统计方法, 以及在什么条件下采用何种统计量。从理论上讲, 这是生物统计学家探讨的问题。限于篇幅, 本文这里不多探讨。从应用角度出发, 笔者建议使用者在分析生存数据或预后因素时, 在材料与方法中注明所采用的方法或统计量。例如, 不要笼统地只表达为采用 logrank 检验或卡方检验。因为由两种 logrank 检验公式计算的统计量结果不一样, 由此所下结论自然也不相同。所以注明采用何种统计量的目的, 是告诉读者你的科研结果或结论是源于何种假设检验统计量。

(文献备索)

聚合酶链反应快速检测钩端螺旋体

范 钦 曹东林 刘静宇

为了早期、快速、准确地诊断钩端螺旋体病 (钩体病), 本研究利用 PCR 技术, 以问号钩体螺旋体 (钩体) 高度保守基因的一段序列为引物, 对广东省近年流行的 4 个血清型的典型株进行了扩增, 并对 1997 年 7~9 月清远市钩体病流行期 15 份早期血清进行了检测, 现报告如下。

一、材料与方法:

1. 菌株: 问号钩体 4 种血清型 (赖型、犬型、秋季型和波摩那型) 标准菌株由广东省卫生防疫站提供。

2. 钩体 DNA 提取: 钩体培养物离心后, 加 1% SDS 及终浓度 40 μg/ml 的 Proteinase K 于 37℃ 水浴裂解菌体, 以等体积酚: 氯仿抽提 3 次, 然后以等体积异丙醇低温沉淀 DNA, 沉淀物用 70% 乙醇洗涤 2 次, 干燥后溶于适量 TE 中备用。

3. 患者血清标本处理: 取血清 50 μl 及硅粒液 40 μl 加入 900 μl 裂解液中 [裂解液配制: 120g GuSCN 加 100ml 0.1 mol/L Tris-HCl (pH6.4), 加 22ml 0.2 mol/L EDTA (pH8.0) 和 2.6g Triton X-100, 搅溶], 旋涡 5 秒钟, 室温置 10 分钟, 再旋涡 5 秒。1 200g 离心 15 秒。弃上清, 用冲洗液 (120g GuSCN 加 100ml 0.1 mol/L Tris-HCl (pH6.4)、70% 乙醇各洗涤 2 次,

丙酮洗涤 1 次, 弃上清后于 56℃ 干燥 10 分钟, 加入 50 μl TE 并旋涡, 置 56℃ 10 分钟, 12 000g 离心 2 分钟, 取上清备用。

4. PCR 引物设计及合成: 参照钩体 16S rRNA 基因序列, 设计出一对引物 R₁、R₂, 扩增片段长度为 270bp。引物序列为: R₁: 5'-43 CGCGTCTTAAACA TGCAAGTCAAGC-3 (G+C mol%=48.0%); R₂: 5'-312CCCGTGTTACCTTGACTCT-3 (G+C mol%=52.6%)。

5. PCR 扩增分析及对患者血清标本的检测: 取钩体 DNA 抽提液 5 μl (0.1ng) 或患者血清抽提物 40 μl 进行扩增反应, 每个循环包括: 95℃ 解链 1 分钟, 55℃ 退火 30 秒, 72℃ 延伸 45 秒, 共 35 个循环。每管取扩增后产物 5 μl, 电泳检测扩增结果。

二、结果与讨论: 对钩体病流行期的 15 例疑似患者 PCR 检测结果为 7 例阳性, 与临床确诊的 7 例患者完全符合 (先后由当地防疫部门采用血培养及血清学试验确证), 阳性符合率为 100%, 明显高于医院常规方法 (MAT) 的检出率 (采样时确诊 5 例阳性), 且 PCR 检测中设立了阳性、阴性对照, 保证了结果的可信度, 说明采用的 PCR 检测方法, 快速、简便且准确率高。