维普资讯 http://www.cqvip.com

进一步探索。

参 考 文 献

1.Grasela TH, et al. Arch Inter Med. 1992;152(3):617
2.郑群,等.新药与临床, 1993;12(5):304
3.丁·布瑞希等著,范世藩,等译.电生理学方法.上海出版社1963;360页
4.周衍椒,等主编.生理学第三版.北京.人民卫生出版社 1989;458页
5.Ayala GF, et al. Brain Res 1973;52:1
6.何晓平,等.生理学报 1990;42(2):141－148
7.李德明,等.中国药理学报 1985;6(4):225
8.Tsuji A, et al. Antimicrob Ag Chemother. 1988;32(2):190
9.Akahane K, et al. Ibid. 1993;77(9):1764

(收稿日期 1997－03－26)

Effect of intracerebroventricular in jection of ciprofloxacin on electric activity, power spectrum and frequency distribution in rats

Yang Suzhen, et al
Department of Biology, Nei Jiang Teachers' College

Electrocorticogram (ECOG) was recorded and analysed in sensorimotor area of rat cortex, by using power spectrum analysis tecchnique, after 300$\mu g \cdot kg^{-1}$and 600$\mu g \cdot kg^{-1}$ Ciprofloxacin (CPLX) injected into right ventricle of brain. The epileptiform discharge appeared at 35.33±35.16 sec and 153.88±94.21 sec in large－dose and small dose－group respectively. The total power and power percentage of θ, α and β band increased, while those of the band with the peak of the main power (δ band) decreased. These results suggest that CPLX can increase excitability of CNS.

KEY WORDS Ciprofloxacin; ECOG; Power spectrum; Frequency distribution

14

324－327

血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳计算机图像分析法

第二临床学院 核医学科 陈太弟*
传 染 科 陈国民 邓存良 刘 林

R446.11
TP391.41

提 要 用计算机图像分析技术分析标准灰度条，研究计算机图像分析时灰度和光密度的线性及相关性，并对标准人血清白蛋白溶液稀释系列进行相对定量分析，同时与分光光度计比色法作比较。结果:计算机图像分析法光密度和灰度级间以及光密度积分值率和样本面积间有直线及直线相关关系;在一定范围内，人血清白蛋白相对含量的理论值与计算机图像分析法测定值间亦有直线及直线相关关系。用此法分析了100例正常人血清白蛋白电泳区带。结论:用计算机图像分析法分析血清蛋白电泳区带，与比色法比较，本法极为简便快速，且准确可靠，重复性好，值得推广。

关键词 计算机图像分析; 血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳 血清蛋白电泳
中图分类号 R446.11

血清蛋白电泳为临床常用的检测试验，其一般用醋酸纤维薄膜电泳后作比色分析(下称常规比色法，colorimetry);此法步骤繁多，因而开展受到限制。个别单位应用记录式光密度扫描仪分析电泳结果，但该仪价格较昂贵，使用亦不便。我们

* 男，1949－07出生，讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

用计算机图像分析技术(下称图像分析法,image analysis)对血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳分离区带进行分析,并与常规比色法比较,认为其极为快速简便,且线性和重复性均良好,值得在临床推广应用,作者尚未见国内报道,现介绍如下。

1 材料与方法

1.1 设备

1.1.1 图像分析系统 PC计算机;清华紫光4A型扫描仪;PWindows操作平台及自制电泳图像分析软件。

1.1.2 北京六一仪器厂产DYY-3Ⅲ型电泳仪;桥式电泳槽;醋酸纤维薄膜。

1.2 试剂

巴比妥钠(上海试剂三厂)批号951225;巴比妥(淄博化学试剂厂)批号891014;氨基黑10B(上海标本模型厂)批号890630;甲醇(重庆东方试剂厂)批号960504-7;冰醋酸(重庆化学试剂总厂)批号960517;氢氧化钠(天津化学试剂三厂 化学纯)批号890309

以上试剂均为分析纯,按照文献[1]分别配制巴比妥缓冲液、氨基黑10B染色液、漂洗液和浸出液。

1.3 材料

1.3.1 自制灰度由浅到深呈8级阶梯状均匀递增的灰度条样品。

1.3.2 自制灰度均一、面积线性增加的灰度条样品。

1.3.3 人血清白蛋白溶液(80g/L)7级倍比稀释(1:1~1:64,即80、40、20、10、5、2.5、1.25g/L)样本系列。

1.3.4 健康受试者100名。男58人,女42人,年龄16~60,平均34.2岁,经血及尿常规和肝肾功能检查无肝脏、肾脏疾病,一般情况良好;于早晨空腹时静脉采血,分离血清备用。

1.4 方法

1.4.1 用图像分析法分析灰度由浅到深呈8级阶梯状均匀递增的灰度条样品,灰度条上各点的灰度级(GREY LEVEL,GL)经计算机取样后得一数字化信号,灰度越深、信号数值就越低,此数值反映了样品上各点的光密度(Optic Density,OD),将灰度级与光密度间作直线回归及直线相关分析;用721型分光光度计于600nm处以空白调零测上述8级灰度条样品的光密度值,将灰度级与光密度间作直线回归及直线相关分析;并将两法所得直线回归方程进行比较。

1.4.2 用图像分析法分析灰度均一、面积线性增加的灰度条样品,按样品水平方向长度将样品等分为8区,从左到右将各区编号,各区面积则线性增加;把样品总的光密度积分值作为100,求得各区各自的光密度积分值占样品总的光密度积分值的百分数,是为光密度积分值率(RATE OF OD,ROD,%);将各区面积(No. of AREA,NA)与光密度积分值率(%)间作直线回归及直线相关分析。

1.4.3 在醋酸纤维薄膜上用法国产Gilson20微升可调微量加样器将人血清白蛋白溶液系列各样本间隔点样3微升,染色、漂洗后分别先用图像分析法分析;而后作常规比色法,即剪切得7条样品,分别洗脱,用721型分光光度计于600nm处以空白条洗脱液调零,分别测定各样本光密度,以各样本光密度之和为100%,计算各样本的蛋白相对含量(%)。各样本的蛋白相对含量(%)的理论值分别为50.4%、25.2%、12.6%、6.3%、3.15%、1.57%、0.79%,将蛋白相对含量(%)理论值(theoretical value, TV)分别与图像分析法及常规比色法所得测定值(measured value,MV)间作直线回归及直线相关分析,并将两法所得直线回归方程进行比较。

1.4.4 把上述常规比色法所得测定值作参考,与图像分析法所得测定值间作直线回归分析,并与指定直线回归方程(Y=X)作比较。

1.4.5 人血清白蛋白溶液系列间隔点样、染色、漂洗的同一标本保存3天,于第一、三天以图像分析法各分析此标本蛋白相对含量(%)5次(n=5),分别计算各样本蛋白相对含量(%)每天的均值、标准差及变异系数,并作其天间的均数比较。

1.4.6 按照文献[1]的方法作醋酸纤维薄膜血清蛋白电泳,得4~5cm长的展开区带,共100例正常人血清蛋白电泳区带,用图像分析法进行结果分析。

1.4.7 统计分析方法除特别说明均参考中国医学百科全书医学统计学。

2 结果

2.1.1 图像分析法灰度级与光密度值的线性关系

用图像分析法分析灰度由浅到深呈8级阶梯状均匀递增的灰度条样品,灰度级与光密度间直线回归方程OD=0.06+0.08GL,$P<0.01$,表明光密度随灰度加深而线性增加;直线相关系数$r=0.992$;$P<0.01$,提示图像分析法灰度与光密度间呈正直线相关。(图1)

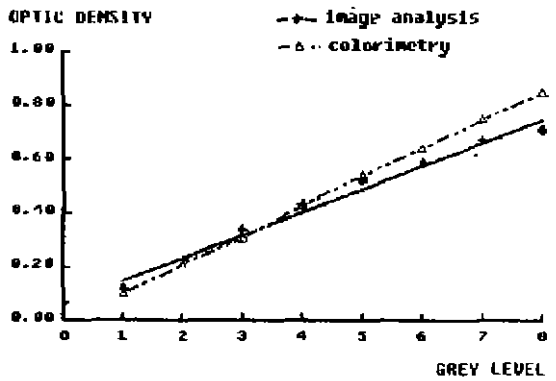


图1 样品灰度级与光密度的关系

用721型分光光度计比色得上述8级灰度条样品的灰度级与光密度间的直线回归方程OD=-0.06+0.11GL,$P<0.01$,表明比色法亦为灰度加深则光密度线性增加;直线相关系数$r=0.999$,$P<0.01$,提示比色法灰度与光密度间亦呈正直线相关。(图1)

将两法所得直线回归方程比较,二者截距$P>0.1$,回归系数$P>0.5$,可认为两直线回归方程间无显著性差异。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.1.2 图像分析法灰度面积与光密度积分值率(%)的线性关系:

用图像分析法分析灰度均一、面积线性增加的灰度条样品，面积与光密度积分值率(%)间直线回归方程ROD＝－1.33＋3.07NA，$P<0.01$，表明光密度积分值率(%)随面积增加而线性增加;直线相关系数r＝0.999，$P<0.01$，提示图像分析法面积与光密度积分值率(%)间呈正直线相关。(图2)

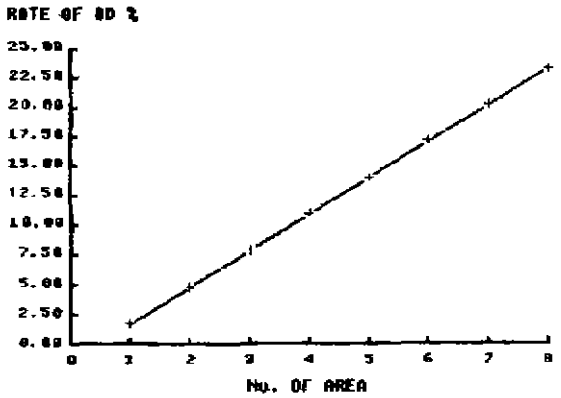


图2 样品面积与光密度积分值率的关系

2.1.3 蛋白相对含量(%)的理论与图像分析法测定值间关系

表1 人血清白蛋白相对含量(%)理论值与测定值间的关系(n=5)

	直线回归方程	P	直线相关系数r	P
图像分析法	MV=2.16+0.86TV	<0.01	0.99	<0.01
常规比色法	MV=1.60+0.89TV	<0.01	0.99	<0.01

用图像分析法及常规比色法测定人血清白蛋白溶液稀释系列蛋白相对含量，结果提示人血清白蛋白系列相对含量(%)的理论值与两法所得测定值间关系均为线性，且呈正直线相关。(表1、图3)

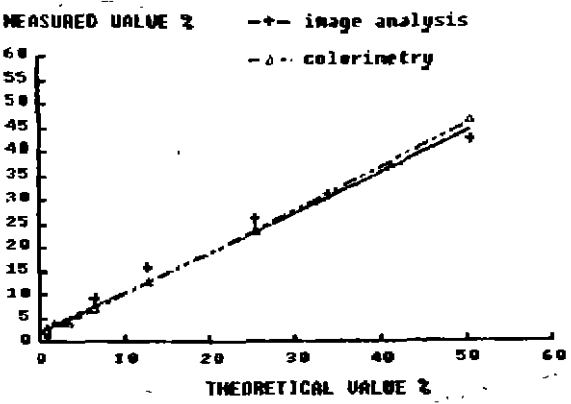


图3 人血清白蛋白相对含量(%)理论值与测定值的关系

将两直线回归方程比较，二者截距$P>0.5$，回归系数$P>0.5$，可认为两直线回归方程间无显著性差异。

2.1.4 蛋白相对含量(%)常规比色法与图像分析法测定值间关系

以常规比色法为参考方法，把常规比色法与图像分析法所得上述人血清白蛋白溶液稀释系列蛋白相对含量测定值间作直线回归分析，得直线回归方程Y＝0.56＋0.97X，$P<0.01$，可认为两法间有直线关系，与指定直线回归方程Y＝X比较，回归系数和截距均$P>0.5$，提示两法测定结果无差别。

2.1.5 图像分析法测定蛋白相对含量时的变异

把两法测得系列中各样本的人血清白蛋白相对含量(%)的变异系数作比较，经u检验分析，两法各样本间的变异无显著性差异，$P>0.05$。(表2)

表2 图像分析法和常规比色法的人血清白蛋白相对含量(%)的变异(n=5)

人血清白蛋白浓度系列(g/L)	图像分析法 $\bar{x}\pm s$(%)	CV(%)	常规比色法 $\bar{x}\pm s$(%)	CV(%)	P
80	43.36 1.86	4.3	46.53 5.05	10.8	>0.05
40	26.21 1.07	4.1	23.72 1.83	7.7	>0.05
20	15.80 1.36	8.6	12.69 0.92	7.2	>0.05
10	9.07 0.96	10.6	7.04 0.31	4.4	>0.05
5	3.92 0.59	15.0	4.02 0.38	9.4	>0.05
2.5	1.68 0.49	28.9	3.42 1.09	31.9	>0.05
1.25	0.77 0.16	20.5	2.57 1.08	42.0	>0.05

2.1.6 图像分析法的重复性

方法1.4.4的结果见表3。

表3 图像分析法的重复性(n=5)

人血清白蛋白浓度系列(g/L)	第一天 $\bar{x}\pm s$(%)	CV(%)	第三天 $\bar{x}\pm s$(%)	CV(%)	P
80	45.10 0.21	0.5	45.24 0.06	0.1	>0.05
40	24.11 0.10	0.4	24.11 0.08	0.3	>0.05
20	14.34 0.23	1.6	14.35 0.16	1.1	>0.05
10	8.68 0.09	1.0	8.57 0.11	1.3	>0.05
5	4.60 0.09	2.0	4.58 0.07	1.5	>0.05
2.5	2.21 0.07	3.2	2.17 0.04	1.8	>0.05
1.25	0.96 0.08	8.3	0.98 0.07	7.1	>0.05

维普资讯 http://www.cqvip.com

结果表明，各天内除1.25g/L组外各样本变异系数均<4%，提示天内重复性良好;3天内各样本的相对含量均数均无显著性差异，$P>0.05$，提示图像分析法天间的重复性良好。

2.1.7 图像分析法的简便性与快速性

具有计算机一般应用知识或稍加培训的医务人员均可顺利使用此图像分析系统，分析50例醋酸纤维膜血清蛋白电泳染色漂洗后的样品并打印结果共需约30分钟，平均每例少于1分钟;而常规比色法分析1例需20～30分钟。

2.1.8 100例正常人的血清蛋白电泳图像分析法分析结果

我们用图像分析法分析了100例正常人血清蛋白电泳区带，结果见表3。

表4 正常人血清蛋白电泳图像分析法结果(n=100)

相对含量(%)	白蛋白	α_1球蛋白	α_2球蛋白	β球蛋白	γ球蛋白
图像分析法	59.4～72.8	2.0～3.8	3.7～7.7	6.8～15.0	10.7～17.9

3 讨论

血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳分析为临床常规的检测试验，用于多种血清蛋白质的相对含量(%)分析，其在肝脏、肾脏疾病和某些代谢性疾病的诊断中有重要意义。血清蛋白各成份经电泳分离后的区带通常经染色、剪切、洗脱、比色后计算或将经电泳分离血清样品的醋酸纤维薄膜染色、漂洗、透明后用记录式光密度扫描仪分析，得出各电泳分离成份的相对含量(%)。用计算机图像分析法分析是近年来随计算机技术的发展而开拓的，且分析速度很快是其它手段不可比的。我们用其对醋酸纤维薄膜电泳染色区带进行分析，并与常规比色法作比较，认为其极为快速简便，重复性好，线性关系亦较好，完全适于临床检验应用;与记录式光密度扫描仪分析比较，图像分析法具有简便灵活的特点，而且膜亦不用预先透明。本文用图像分析法分析100例正常人的血清蛋白电泳，其结果与文献[1,2,3]均相似，惜文献[2]为综合多家结果，未能指出其染色试剂，文献[3]则为丽春红S染色，此种染色较适用于记录式光密度扫描仪分析。随着计算机技术在全社会的迅速普及，其在医疗卫生领域中的应用亦日益广泛，由"电脑"辅助的诊断、治疗和实验室设备已受到医务人员的广泛认同与欢迎。近年亦有应用图像分析法的国外产品进入国内，但价格昂贵，且软件非中文界面，对基层医疗单位应用带来一定困难，本文所用电泳图像分析软件工作于中文Windows操作平台下且为全中文界面，具有图像直观，使用简明方便，人机关系友好等优点。目前计算机及其相关设备的性能不断提高而价格大幅下降，图像分析法可望普及于各层次临床医疗单位。

参考文献

1.浙江医科大学.新编实用临床检验手册.福建，福建科学技术出版社 1995;230
2.王淑娟，等.现代实验诊断学手册.北京，中国协和医科大学联合出版社 1995;299
3.叶应妩，等.临床实验诊断学.北京，人民卫生出版社 1989;369,2318

(收稿日期 1997－05－06)

Computer－aided image analysis of serum protein electrophoresis results

Chen Taidi,et al
Department of Nuclear Medicine, Second College of Clinical Medicine

Standard grey level samples were analysed with computer－aided image method (CAIM), the linearity and correlation between grey level (GL) and optic density (OD) were calculated. And relative quantitative study with standard human serum albumin (HSA) series was carried out. The results revealed that there were good correlations between OD and GL, rate of OD integral value and sample area, respectively. There were also good correlations between the theoretical value of relative content of HSA and the detective value measured by CAIM. Results of serum protein electrophoresis in 100 healthy volunteers were analysed with CAIM. It was proved that CAIM was simple and very rapid, and led to good recovery.

KEY WORDS Computer－aided image analysis;Serum protein electrophoresis