

· 系列问答 ·

流行病学知识问答

A 部分 李新华¹ B 部分 郭元吉² 组稿与总审 曾光³

A 嵌入式病例对照研究

A₉₉ 什么是嵌入式病例对照研究?

答: 嵌入式病例对照研究(nested case control study, NCCS)又被译做巢式病例对照研究, 也称队列内病例对照研究(case control study within a cohort), 是在全队列内套用病例对照设计。这一设计方案于 1973 年由美国流行病学家 Mantel 最早提出, 称其为综合性病例对照研究(synthetic case control study)。它在国际流行病学协会出版的《流行病学词典》(John M. Last 主编, 1988)中的定义为: NCCS 是这样一种病例对照研究, 它的病例和对照人群都从一个全队列(即通常所说的队列研究)中选取。因为病例和对照的某些资料已经存在, 一些潜在混杂因素的影响就能被减少或避免。如病例和对照的暴露资料等均在疾病或死亡未发生前获得, 故不存在暴露与疾病的时间顺序问题, 观察偏倚也能得到很好地控制。

A₁₀₀ 为什么要使用 NCCS?

答: 应用 NCCS 的首要原因是它只需收集那些被选为 NCCS 研究对象而不是全队列的完整资料, 从而减少了资料收集所花费的人力物力。队列研究在确定暴露因素与疾病的因果关联上, 能为人们提供直接的证据, 比病例对照研究更具有说服力。但是开展慢性病病因调查的大规模队列研究存在许多困难令人望而却步。假如有一个大规模的队列研究, 且要收集并分析研究对象的血、尿等生化标本。这时, 流行病学家和生物统计学家们都期望借助一种新的设计来减少工作量, 大大降低科研经费, 并能方便地在微机上实施数据处理和统计分析, 而其研究结果在阐述暴露因素与疾病联系上与全队列研究设计所能说明的问题没有两样。NCCS 设计和病例队列研究设计(case cohort design)就能使之梦想成真。在膳食调查中, 个人饮食可以根据对不同时期

摄入食物的详细膳食调查来评估。运用计算机分析这些记录编码和描述非常吃力而且代价很高。如果应用 NCCS 方法, 只需对随访过程中发病的病例, 以及为每一例病人所选取的对照进行编码, 可以省去大量的工作。当对生物学标本进行昂贵的实验室分析时, 队列中每一个对象的资料都可以收集并保存起来, 但只分析进入 NCCS 的病例和对照的资料, 省力省钱而且可与由整个队列人群估计的一样精确。

其次, 随着时间的推移, 研究工作的开展和深入, 一项队列研究很可能要增加原设计中没有的某一暴露或混杂因素的内容, NCCS 能妥善解决这一问题。例如, 假设常规的健康服务监测资料显示不同组别病人的死亡率不同, 但是, 因为缺乏重要混杂因素的资料, 解释上述结果时不能排除是否因为混杂所致。这时, 设计一个 NCCS, 仅需收集选入 NCCS 的研究对象更详细的医学档案资料就能测定出混杂因素的作用, 并能对其进行控制。

最后, 应用 NCCS 能避免那些与时间关联自变量(time-dependent explanatory variables)的计算问题。NCCS 设计建立在对各危险集随机抽样样本的基础之上, 而队列中处在与结局事件(event)或称失效(failure), 如发病, 发生时间相同时的非病例组成的危险集(risk sets)是 Cox 回归模型分析中的基础概念。

A₁₀₁ 危险集是什么? 如何对危险集中的个体抽样?

答: 图 1 显示在对 11 位研究对象的随访过程中, 有 4 人发生结局事件(发病或死亡)。相应于这 4 个结局事件, 就有 4 个危险集(risk sets)。它包括在发生每一个结局事件的瞬间, 所有仍处于随访中的研究对象, 也就是图中所示所有观察时间线跨过相应的垂直虚线的研究对象。进行 NCCS 时, 每出现一例病人就要从相应的危险集中选择对照, 即对该危险集中所有非病例研究对象进行随机抽样。对一个危险集的随机抽样, 必须要独立于对其它危险集的随机抽样, 也要独立于该危险集中各成员以后出现的结局事件或截尾数据(censoring)。

A₁₀₂ 图 1 中 4 个危险集的样本量各是多少? 如何为每一例病人选择一个对照?

1 中国预防医学科学院慢性病和健康促进办公室(筹) 北京 100050

2 中国预防医学科学院病毒学研究所 北京 100052

3 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 北京 102206

答: 第一个危险集包含 10 个研究对象(1 个病人, 9 个非病例), 其它三个危险集分别包括 9、7 和 4 个研究对象。第一例病人的对照从第一个危险集 9 个未患病者中随机选取一个。另外三个病人的对照分别从其余危险集 8、6、3 个非病例中随机选取一个。

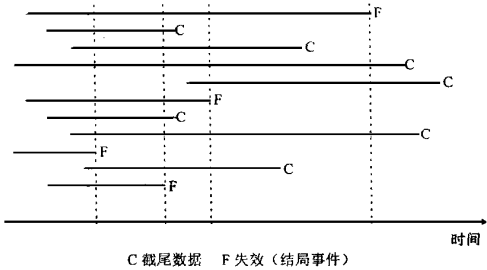


图 1 危险集示意图

(资料引自 David Clayton & Michael Hills 1992)

A₁₀₃ 为每一个病例选多少对照较合适?

答: 如果对照的数量是病例的 m 倍, 病例对照研究相对于队列研究的精确度等于:

$$\frac{\text{病例对照资料所估算的标准差(SD)}}{\text{整个研究人群资料所估算的标准差(SD)}} = \sqrt{1 + \frac{1}{m}}$$

严格说来, 这个公式适用于暴露的效果小, 而且不控制任何混杂的情况。但它也常常用来对其他情况进行粗略指导。因为当 $m > 5$ 后, $\sqrt{1 + 1/m}$ 与 1 相差无几。为每个病例选取 5 个或最多 10 个对照, 而不是整个危险人群, 几乎不损失研究的精确性。

A₁₀₄ 同一研究对象能否被 NCCS 多次选为对照?

答: 简单地说, 同一研究对象可以被 NCCS 多次选为对照, 甚至后来它也可以成为一个病人。在发病率极低的队列研究中, 同一研究对象被多次选用的机会较少。为避免同一研究对象被多次使用而对随机抽样采取的任何干预措施都违背对各危险集独立抽样的要求。

A₁₀₅ 如何对病例对照进行配比?

答: 在 NCCS 设计中, 病例仍然是全队列中的所有病例, 而对照则是在相应失效时间上的危险集内选出的很少一部分非病例。除了这种时间配比外, 较常考虑的配比因素是性别、年龄, 此外还要根据具体情况对混杂因素进行配比。例如, 对肺癌的职业研究中, 吸烟是一个很强的混杂因素, 这要求职业人群之间的比较应该控制吸烟。假如一个病例选五个对照, NCCS 产生的研究总体中吸烟者和非吸烟者的比例可能与全队列的大不相同。因为吸烟者中的病例要比非吸烟者中的多得多, 很可能出现这种情况,

在吸烟者中, 每一位病例找不出五个对照, 而在非吸烟者中每一病例有远多于五个的对照。在这种情况下, 最好能在病例和对照中对吸烟习惯进行配比。当然, 这样做的先决条件是掌握整个队列的吸烟资料。对病例和对照的吸烟习惯进行配比, 就不能推算吸烟的效果, 但当吸烟成为研究中一个混杂因子时, 我们没必要顾虑于此。

A₁₀₆ NCCS 资料分析常用的软件和可采用的统计方法有哪些?

答: NCCS 符合配比病例对照研究设计方案, 因此可采用相应成熟的统计方法, 如 M-H 法、条件 logistic 回归模型。另外, NCCS 在统计方法上也有一些发展, 如 Cox 比例危险回归模型的应用, RR 的伪似然函数的估计。常用的统计软件均可进行分析, 如 SAS、EPILOG、EGRET、SPSS 等。

B 禽流感(avian influenza)

“禽流感”这个名称对一般人来讲确实相当陌生, 就是兽医界也是从 1955 年之后对它才逐步有所认识。到底禽流感是什么? 它有何危害? 1997 年香港特区所发生的禽流感(H₅N₁)为何引起世界一片惊慌? 这场风波是否已过去? 这些都是人们关心和感兴趣的问题。现就这些问题做简要介绍。

B₉₈ 何谓禽流感?

答: 禽流感原意是指由流感病毒引起的一种世界性广泛分布的、禽类烈性、急性呼吸道传染病。该病发生突然, 传播迅速, 发病率高(可高达 100%), 死亡快(发病后 5 天内可死亡), 病死率高(一般 30%~80%, 甚至 100%)。病鸡死亡之前常表现出: 极度消瘦, 冠和肉垂发绀, 下痢, 身体蜷缩, 共济失调, 惊厥等中枢神经系统和全身中毒症状。病毒几乎分布于全身任何器官和组织。病鸡的分泌物和排泄物, 甚至病母鸡下的蛋均携带病毒。故禽流感有禽瘟疫(fowl plague)之称, 我国民间常称之为鸡瘟(与新城疫混为一谈)。鸡瘟于 1878 年意大利就已首次报道。1900 年证明其病原体为滤过性因子——鸡瘟病毒(fowl plague virus FPV), 但不知道它是流感病毒。1955 年根据病原体的核蛋白(NP)的抗原特性才确认 FPV 是甲型流感病毒的一种。为区别于 1926 年发现的新城疫病毒(newcastle disease virus, NDV), 将 FPV 称为真性鸡瘟或欧洲鸡瘟病毒, NDV 称为伪鸡瘟或亚洲鸡瘟病毒(因其首先发现于亚洲印度尼西亚的巴塔维西)。接着又将 1949 年从德国鸡群中分离出的 N 病毒和 1952 年从加拿大病小鸭分离出的滤过性因子也确认为是甲型流感病毒。而其余禽流

感病毒均于 1956 年或以后才相继被发现。至今已发现的甲型流感病毒血凝素有 15 个亚型 (H_{1-15}), 神经氨酸酶有 9 个亚型 (N_{1-9}), 它们均可从禽中分离出。至今分离到流感病毒的禽有: 鸭(包括野鸭)、鸡、野鸡、火鸡、珍珠鸡、海鸥、燕鸥、鹅、鹌鹑、鹧鸪、鸬鹚、鸽和鹁鹑等。但不是所有禽流感病毒均能引起真性鸡瘟, 至今已知的主要是 H_5 和 H_7 两亚型, 其次为 H_9 和 H_4 亚型毒株, 也不是这些亚型毒株对鸡或火鸡均具有高致病性, 就是强毒株也不是均能在任何禽中引起流感或流感流行。一般情况下, 水禽均表现出不显性感染。

近来发现禽流感病毒也能在一些哺乳类动物, 甚至人中引起流感疾病发生或流行。因此, 禽流感应该认为是由禽流感病毒引起的一种急性呼吸道传染病。

B₉₉ 禽流感对人类的危害如何?

答: 禽流感病毒给人类所造成的灾难已越来越引起人们的重视。

1. 对养禽业的危害: 自 1878 年意大利报道发生鸡瘟以来, H_5 和 H_7 两亚型毒株一直断断续续地在世界各地鸡或火鸡中造成流感爆发或流行。如 1983~1984 年美国宾夕法尼亚州鸡群中发生了 H_5N_2 毒株引起的流感大流行, 损失鸡 1 200 多万只, 当地全部鸡场倒闭, 经济损失达 5 000 多万美元。又如, 1997 年 3~5 月, 香港特区新界 3 个鸡场发生了 H_5N_1 亚型毒株引起的流感爆发, 造成 3 个鸡场倒闭, 7 000 只鸡死亡。有的毒株虽然所造成的死亡率并不高, 但能使母鸡产蛋量明显下降, 肉鸡生长速度明显减缓。故我国农业部把禽流感定为甲类监测的传染病。

2. 对畜牧业的危害: 如 1989 年, 我国黑龙江和吉林两省马群中发生了禽 (H_3N_8) 流感流行, 造成数万匹马患病, 数百匹马死亡, 一时间搞得人心惶惶, 严重影响了当地春耕生产并造成巨大的经济损失。又如 1980 年在欧洲猪群中发生了禽 (H_1N_1) 流感流行, 同样也造成了巨大经济损失。

3. 对野生动物的威胁: 1979 年和 1980 年, 美国东北海岸海豹中发生了禽 (H_7N_7) 流感流行, 造成约 20% 的海豹死亡, 并从海豹脑组织中分离出流感病毒。1983 年美国新英格兰海豹中又发生了禽 (H_4N_5) 流感爆发, 造成 2%~4% 海豹死亡。除此之外, 从搁浅鲸的肺和脐中还分离到禽 ($H_{13}N_2$ 和 $H_{13}N_9$) 流感病毒, 从貂中分离出禽 ($H_{10}N_4$) 流感病毒。

4. 对人类的直接危害: 禽流感病毒对人的直接危害是人们普遍关心和感兴趣的一个话题。近来流感病毒生态学和分子生物学研究表明, 禽是流感病毒基因的贮存库, 在人流感病毒大流行株的起源中起着重要作用, 也就是说每次世界性流感大流行给人类所带来的灾难均与禽流感病毒密切相关。但还未获得确凿的证据加以证实。在香港特区发生禽 (H_5N_1) 流感病例之前, 仅发现禽 (H_7N_7) 流感病毒能偶尔引起人眼结膜炎。英国人 Bear 等曾用 H_4 、 H_6 和 H_{10} 禽流感病毒感染志愿者, 发现仅约 25% 被感染者能排毒, 出现轻型症状, 但无抗体应答, 表明受感者对感染病毒不敏感。而且一般认为, 流感病毒基因具有严格的宿主特异性, 人与禽流感病毒不能在相互宿主间直接传播。故香港特区所发生的禽 (H_5N_1) 流感将会给人们一些新的启迪。

B₁₀₀ 香港特区所发生的禽 (H_5N_1) 流感为何引起世界一片惊慌?

答: 香港特区政府做出杀掉 1 600 万只禽的决定决非草率之举。

1. 首先看看香港特区所发生的情况。1997 年 5 月 11 日至 12 月 28 日发生禽 (H_5N_1) 流感 18 例, 这对于 600 多万人口来说, 发病率并不高, 但死亡 6 例, 死亡率高达 33%; 死者中年龄最高的才 60 岁, 其余均为中青少年; 病原是禽流感病毒。这些与一般人流感大不相同。相反, 倒与 1918 年世界性流感大流行情况很相似。那次流行造成 2 000 多万人死亡, 美国死亡的人数比在第一次世界大战、朝鲜战争和越南战争中战亡人数总和还多; 死者主要是青壮年; 病原是猪型 (H_1N_1) 流感病毒, 近来基因分析表明, 它实质上是禽流感病毒。所以人们担心, 香港特区此次发生的, 可能意味着 1918 年那场悲剧的重演。

2. 其次病原是典型的真性鸡瘟病毒, H_5N_1 亚型毒株。基因分析表明, 它的血凝素重链 (HA_1) 与轻链 (HA_2) 间连接肽由一串碱性氨基酸 (R-E-R-R-R-K-K-R) 组成, 即对鸡具有高致病性的毒株。用它静脉注射 8 只鸡, 3 天内全部死亡, 鼻腔感染 8 只, 除 1 只存活外, 其余的 9 天内全死亡。鸡死亡之前均表现出鸡瘟的症状。如果此景发生在人, 真会不堪设想。

3. 存在着危险性。虽然, 至今尚未找到有人传人的线索和依据, 但如果禽 (H_5N_1) 流感毒株长期在人或鸡群中存在下去, 它就有可能发生基因突变产生新变异株或人流感病毒发生基因重配形成重配株, 从而获得了对人致病和人传人的传播能力, 造成

新亚型毒株出现, 给人类带来新的灾难。而且这种新亚型毒株必然会带有 FPV 的特性, 其危害性完全有可能比非洲所发生的埃博拉病毒高出千万倍。

4. 缺乏有效的防治措施。虽然金刚烷胺类药物对甲型流感病毒有预防和早期治疗的作用, 但这类药物在机体内半衰期短, 需天天服用, 多服后会有一定的副反应, 孕妇服用有出现畸胎的危险, 同时易引起耐药毒株的出现等弊端, 故很难广泛应用。疫苗接种是当今预防流感的一种有效的方法, 但流感病毒疫苗都是通过鸡胚来制备的, 而香港特区从人分离出的 H₅N₁ 毒株在鸡胚传代时, 能杀死鸡胚, 故很难用常规方法来制备 H₅N₁ 毒株的疫苗。

B₀₁ 香港禽(H₅N₁)流感风波是否已过去?

答: 虽然自 1997 年 12 月 29 日香港采取杀鸡大行动以来, 至今未发现新病例。这是否意味着禽流感这场风波已过去, 看来, 下这样结论还为时过

早。因真正的传染源和传播方式至今还尚未完全弄清。如果鸡确实是真正的传染源, 也无法将全世界鸡都杀光, 虽然香港特区不发生了, 迟早会有一天在别的地方出现。因此, 千万不能掉以轻心, 在我国内地应尽快摸清人群和家禽中是否也存在有 H₅N₁ 毒株, 如存在应设法将其消灭。平时不应与病禽, 尤其与家鸭和鹅随便接触, 不能让病禽流入市场, 农贸市场销活禽处要搞好卫生, 平时与活鸡密切接触者要做好自我防护。寻找鸡胚以外对 H₅N₁ 毒株敏感的细胞系统和抗原性与香港人 H₅N₁ 毒株相同, 但对鸡胚不致死的毒株或用基因工程技术将香港人 H₅N₁ 毒株改建成对鸡胚不致死的毒株, 一旦需要, 可马上投入疫苗制备。但更不能惊慌失措, 谈鸡色变, 客观来讲, 如 H₅N₁ 毒株不发生进一步突变, 在短期内造成人间流感流行是不可能的, 鸡经过煮沸等加工后流感病毒均已被杀灭, 可以放心食用。

常州市春季呼吸道感染病原体调查

孟平 丁雁 李璐 胡国成 刘皓 陆亚华

1998 年 2~3 月间, 首先在常州市各小学, 继而中学和学生家长中, 发现大批发热、头痛、咳嗽患者, 抗菌治疗后效果不理想, 病程迁延, 退热后咳嗽持续 1~2 周者较多。为了加强治疗效果及为临床流行病学调查提供实验依据, 我们对本次呼吸道感染儿童和成人, 进行了部分病原体的调查, 着重在于了解非细菌性病原体的感染情况, 现报告如下。

一、对象与方法:

1. 观察对象: 儿童对照组为 1997 年 9~12 月期间小学及幼儿园大班儿童 60 名。呼吸道感染初诊儿童 36 例(8~12 岁), 成人 19 例。表现为发热、咳嗽伴胃肠不适, 血象正常。

2. 研究方法: ①标本采集用无菌咽拭子法, 核酸提取用离子去污剂法; ②常规 PCR 法检测腺病毒(Ad)、B-19 细小病毒; ③套式 PCR 法测定肺炎支原体(Mp)、沙眼衣原体(Ct)、肺炎衣原体(Cp); ④核苷酸序列测定, 全自动核酸序列分析仪为 ABI373A 型, 由中国科学院上海植物生理研究所国家重点实验室提供; ⑤Mp 和 Cp 标准株由美国 NCBI 提供。

二、结果:

1. 呼吸道感染 Cp 检出率显著增高。将本次呼吸道感染儿童与正常儿童咽拭子比较, 结果发现前

者 Cp 检出率(55.6%, 20/36)有显著增高。还发现 Mp 检出率(16.7%, 6/36)及 Ct、生殖支原体(Mg)和 B-19 细小病毒检出率(各为 5.5%, 2/36), 与非流行期正常儿童差异无显著性。本次呼吸道感染儿童和成人标本分析结果表明, Cp 检出率(52.6%, 10/19)显著增高($P < 0.001$)。儿童与成人相比 Mp 和 Ct 的检出率差异未见显著性。

2. 呼吸道感染 Cp 的部分核苷酸一级结构分析, 表明成人与儿童的 Cp 株都与国际标准株基因片段核苷酸序列完全相同。

三、讨论: 对常州市呼吸道感染初诊病例的病原体研究表明, 除了未检查的其它病原体之外, Cp 的感染已超过 50%, 且成人和儿童具有相似的感染率。以往文献报告估计 10% 的成人肺炎, 15% 的青少年肺炎和支气管炎与 Cp 感染有关。常州市此次呼吸道感染的流行, Cp 感染率高于文献报告, 提示套式 PCR 法检出率比常规方法高, 也提示本地区衣原体感染性疾病呈升高趋势, 存在引起流行性感染的可能性, 应当引起注意。

除 Cp 之外, 还发现呼吸道感染成人和儿童肺炎支原体感染率增高, 其中成人阳性率为 21.1% (4/19), 儿童为 16.7% (6/36)。

(收稿: 1998-08-21 修回: 1998-10-05)