

· 系列问答 ·

流行病学知识问答

A 部分 赵仲堂 B 部分 叶顺章 组稿与总审 曾光

A 流行病学研究中的因果推论

A₁₇ 何为因果推论？其基本步骤是什么？

答：因果推论是指研究者根据流行病学研究资料，对某因素与某疾病（或健康状况）之间的因果关系作出正确判断的论证过程。其基本步骤包括：

1. 确定两事件间是否存在统计学上的联系。两事件间若存在因果关系，则两者间必然存在统计学上的联系，即在统计学上，两者在数量关系上有显著关联。

2. 判断两事件间统计学联系的性质。在统计学上呈现关联的两事件间，不一定为因果关系所致。因为在统计学上的相关，除因果关系外，也可能是由于各种偏倚或机遇所致的假相关——虚假联系；也可能是由于第三因素的作用所导致的一种间接相关——间接联系。因此，若观察到两事件间在统计学上的联系，应判明这种联系的性质，是否为一种真正的联系，即排除虚假联系和间接联系。

3. 检验是否符合因果联系的判断标准。确定两事件间存在真正的统计学联系后，以因果联系的判断标准，根据符合情况对其逻辑关系进行检验。

4. 进行科学概括与抽象，作出判断。根据以上过程，结合其它资料或现有知识进行概括、推理，据此作出是否因果关系的判断。

A₁₈ 何为虚假联系？如何排除？

答：虚假联系指本来两事件间不存在统计学上的关联，由于在研究过程中的某些错误或机遇，使得两者之间表现出了统计学上的联系。这种联系是一种假的联系，因此亦称关联假象（spurious association），或人为联系。

虚假联系是由于在研究过程中所出现的各类偏倚或机遇所致，多半可以通过对研究的科学设计和

认真的实施得以控制。

1. 选择偏倚是指在研究对象的选择过程中，被选入到研究中的人同没有被选入者特征上的差异所造成的偏差。如在病例对照研究中病例与对照的选择，队列研究中暴露组与非暴露组的选择等。此类偏倚可以通过严格的选择原则、标准，在研究设计、实施时予以控制。存在选择偏倚的资料，在理论上可以通过比较总人群与实际抽样人群研究疾病与暴露因素分布的情况，对其偏倚的方向予以测量，但一般很难再予校正。只可详细分析研究结果受其影响的程度，并予以说明。

2. 信息偏倚是指在研究的实施过程中，自研究对象收集资料时所产生的系统误差。可来自于研究对象、研究者以及用于测量的仪器设备等，如回忆偏倚、测量偏倚等。此类偏倚同选择偏倚一样，绝大部分是可以通过严格的研究设计和认真的实施来避免的。存在信息偏倚的资料在条件允许时，可通过测量所用方法测定患病与暴露的灵敏度与特异度来测量偏倚的方向与大小，并予以校正。

3. 混杂偏倚是由未被识别的某一（些）混杂因素的混杂作用所导致的偏差。此类偏倚可在对某项研究可能的混杂因素深入、细致了解的基础上，在设计时通过限制、配比等技术予以控制；也可在资料分析时，以一定的数据处理技术对其强度与方向予以识别和校正，如分层分析、多变量分析等。

除以上偏倚外，机遇也可能导致虚假联系，可通过统计学检验识别之。同理，两事件间在统计学上若未表现联系时，也应考虑是否为偏倚或机遇所致的一种假象，亦应逐一排除，方可下无统计学联系的结论。

A₁₉ 何为间接联系？如何排除？

答：间接联系亦称继发联系（secondary association），是指两事件之间本不存在统计学上的联系，由于两事件均与另外某一因素有关，而导致两者表现为统计学上的联系。例如吸烟既可引起肺癌，也可引起冠心病，则导致肺癌与冠心病之间存在统

作者单位：250012 济南，山东医科大学公共卫生学院流行病学教研室（赵仲堂）；210042 南京，中国医学科学院中国协和医科大学皮肤病研究所（叶顺章）；102206 北京，中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所（曾光）

计学上的联系。我们不可能期望治疗冠心病而降低肺癌发病率,反之亦然。

间接联系实际上是受与该两事件均有关联的某因素的混杂影响所致。如上例,冠心病与肺癌之间的相关现象是受吸烟(混杂因素)的影响,可通过对各分析变量的深入了解,以混杂控制技术、方法去识别、控制。

A120 因果推断的常用标准有哪些?

答: 1. 联系的强度: 可以 OR、RR 或其它关联强度指标表示, 强度愈大, 因果联系的可能性愈大。但此并非否定联系强度较弱的关联(弱关联), 如 $RR > 1$ 或 ≤ 1.5 研究资料的流行病学意义。

2. 联系的一致性: 不同人群、不同时间, 以不同的研究方法均可观察到两事件间的关联, 此谓联系的一致性, 亦称联系的恒定性或稳定性。

3. 联系的特异性: 某疾病只与某因素的暴露有关, 或某因素只引起某种疾病, 即为联系的特异性。

4. 联系的时间顺序: 因在前, 果在后。研究因素的暴露必在疾病发生之前, 即为联系的时间顺序。在病例对照研究或现况研究中, 对一些慢性病来说, 由于分析因素与研究疾病往往集于一人之身, 有时因果很难分清, 须谨慎分辨。

5. 剂量反应关系: 随着暴露因素剂量的变化, 研究疾病的频率(发病率、死亡率等)或联系强度亦相应变化, 此谓两者存在剂量反应关系。

6. 联系的合理性: 即观察到的两事件之间的联系在生物学上或与已有的知识相符合, 两者间的联系言之有理。

7. 实验证据: 即观察到的两事件之间的关联, 可得到实验流行病学或实验室研究、分析数据的支持。

A121 因果推论中应注意什么问题?

答: 1. 流行病学研究中的因果推论是一个很复杂的论证、推理过程。不能主观武断, 更非凭空的逻辑游戏; 绝不可以仅根据与某一项或某几项条件或标准的符合情况作出推断。因此在完成上述步骤 1~3 后, 还需要认真结合已有的知识或其它资料如临床、病理以及其它基础学科的研究成果, 进行科学的概括和逻辑推理, 然后作出判断。

2. 流行病学研究中的因果关系有些是非常复杂的, 可以是直接的因果联系, 也可以是间接的因果联系。某些疾病的发生往往与许多因素有关, 有的是必要病因, 有的是充分病因。在众多的危险因素中, 各因素间的作用方式、作用强度往往非常复杂, 因此对用于因果推论的资料除在设计上尽可能科学、严

谨外, 应尽可能应用多因素分析和因素间的交互作用分析。此外, 对两事件间在统计学上表现为弱关联的流行病学研究, 可将若干个相同目的的研究资料汇总, 以 Meta 分析方法进一步分析。

3. 在应用因果推断标准检验两事件在统计学上的联系是否为因果关系时, 如何掌握应用? 就现有部分资料来看, 以应用联系的一致性、联系的强度、剂量反应关系和联系的合理性作出因果推断的较多。实际上目前尚无根据与各条标准的符合情况, 对因果联系的可能性予以量化的方法与可能, 对这些标准的应用仍带有很大的主观性。一般来说, 应综合几个标准, 符合的标准愈多, 因果关系误判的可能性愈小。也可以根据已有的知识, 对某些标准赋予科学、合理的权重。

4. 自疾病的多因论与控制疾病、预防疾病的策略出发, 流行病学对病因的定义有别于临床、基础学科。如“那些能使人们发病概率增加的因素, 就可被认为有因果关系存在; 当它们之中一个或多个不存在时, 疾病的频率下降”(DE Lilienfeld)。因此, 流行病学工作者在进行因果推论探讨病因时, 并不一定对某因素对某疾病的必要病因、充分病因作用都搞清楚后才应用于疾病的预防与控制。如吸烟与肺癌的关系, 吸烟尚不完全满足作为必要病因与充分病因的条件, 但根据流行病学观点, 可以通过实施戒烟以降低肺癌的发病率或死亡率。

B 衣原体流行病学

B21 非淋菌性尿道炎(NGU)和沙眼两种病在临床上完全不同, 为什么将能引起 NGU 的衣原体称为沙眼衣原体?

答: 衣原体是一类能通过滤菌器、严格细胞内寄生、在宿主细胞中有独特生活周期的微生物。最初它们被认为是鹦鹉热—性病性淋巴肉芽肿病毒组的成员。60 年代微生物学家发现与其说这些微生物是病毒, 不如说更像细菌, 如其含有 RNA 和 DNA, 具有核糖体, 以二分裂方式增殖, 对某些抗生素敏感并具有和细菌类似的细胞壁等, 遂将它们命名成一个独立的属——衣原体属。在这个属当中又可根据其致病性的不同分为二个亚属或种, 即沙眼衣原体(I 属)和鹦鹉热衣原体(II 属)。

沙眼衣原体的抗原组成和相互关系较为复杂。其中一类为所有衣原体的成员均共有的群抗原, 另一类为特异性抗原, 包括种特异性抗原和型特异性抗原。型特异性抗原与衣原体的传染性密切相关, 是一种能致死小鼠的毒性物质。通过衣原体的抗原

构造分析, 可将沙眼衣原体分成 15 个血清型, 分别用英文字母来表示。其中 A、B、Ba 和 C 型引起沙眼, D~K 型引起非淋菌性尿道炎、附睾炎、宫颈炎、输卵管炎和盆腔炎等, L₁、L₂ 和 L₃ 型引起性病性淋巴肉芽肿。因此, 引起 NGU 的衣原体与引起沙眼的衣原体是同一个亚属(Ⅱ属)的衣原体, 只是它们所含的型抗原不同而已。由此可见, 沙眼衣原体的血清型不同, 所引起的疾病相差很大, 沙眼衣原体的疾病谱是很复杂的。

B₁₂ 当前生殖道衣原体感染的流行趋势怎样?

答: 总的说来, 生殖道衣原体感染的流行已成为越来越严重的公共卫生问题。在欧美发达国家, 虽然性病有所下降, 但衣原体感染一直居性传播疾病的首位。据世界卫生组织的估计, 全世界每年发生性病病例(除艾滋病外)2.58 亿例, 其中衣原体感染 5 000 万例, 生殖器疣 3 000 万例, 淋病 2 500 万例, 生殖器疱疹 2 000 万例, 梅毒 350 万例, 软下疳 200 万例。此外滴虫感染 1.20 亿例, 但滴虫感染在我国不归入性病而算一般妇科病。另据 WHO 西太区办公室资料, 1993~1996 年性病低危人群中衣原体感染率为 5.6%(菲律宾)和 2.5%(越南), 高危人群(妓女和暗娼)中, 感染率可达 17.3%(菲律宾)。

我国近几年来 NGU 的发病率也逐年上升。据全国性病控制中心的资料, 1993~1996 年全国 26 个性病监测城市 NGU 的发病情况如表 1。

表 1 全国性病监测城市非淋菌性尿道炎发病情况

年份	病例数	构成比(%)	发病率(/10 万)
1993	1404	3.81	3.99
1994	4667	9.33	13.11
1995	9311	16.91	25.69
1996	11895	19.51	32.67
1997	14347	21.06	38.79
1998	19720	22.71	53.11

NGU 可由沙眼衣原体、解脲支原体等病原微生物引起, 其中多数为沙眼衣原体。在对诸多因素进行多元分析之后, 发现年龄因素(< 29 岁)与衣原体感染密切相关。文献报告女性患者多于男性患者, 美国 1987~1991 年 35 个州的统计, 男女之比为 3.3:5.9 其原因可能是对无症状女性进行了有效筛查, 而她们的男性性伴却未得到诊断、治疗和报告。在我国, 从报告的病例数看似男性多于女性。此外, 衣原体感染还和多性伴和既往淋病感染史有关。应该说如能提供更简便的衣原体感染的诊断方法, 估计发病人数可能增多而更靠近实际发病人数。

B₁₂₃ 在某些西方国家(如美国)已将衣原体感染从 NGU 中分出来单列成一种性病, 那么 NGU 和泌尿生殖道的沙眼衣原体感染如何区分?

答: 依据以往的定义, NGU 是指由性接触而传染的尿道炎。它在临床上有尿急、尿频等症状, 但其分泌物经复查检查均不能找到淋球菌。已知 40%~50% 的 NGU 由沙眼衣原体引起, 20%~30% 由解脲支原体或人型支原体引起, 10%~20% 由阴道毛滴虫、白色念珠菌和单纯疱疹病毒等引起。随着衣原体感染的增多及对其研究的深入, 发现沙眼衣原体对人类的危害很大。因此, 1996 年美国疾病控制和预防中心对不少传染病包括性病的定义重新作了修正, 这些疾病包括衣原体感染、软下疳、淋病、梅毒、生殖器疣、腹股沟肉芽肿、性病性淋巴肉芽肿、粘液脓性宫颈炎、非淋菌性尿道炎和盆腔炎性疾病。过去我国将泌尿生殖道的沙眼衣原体感染包括在非淋菌性尿道炎中, 而美国疾病控制和预防中心却将衣原体感染、粘液脓性宫颈炎及盆腔炎性疾病作为一种性病或与性病有关的病征单独列出。因此在目前, NGU 是排除了淋病和沙眼衣原体感染后的一种临床诊断, 它不是由淋病奈瑟菌引起的尿道炎, 但有可见的不正常的尿道分泌物; 或男性 < 60 岁, 无肾脏或膀胱感染、无前列腺增大及尿路的机械损伤但尿白细胞脂酶试验阳性; 或尿道分泌物涂片有尿道炎证据(高倍镜下白细胞 ≥ 5 个)。在男性, 如其疾病符合 NGU 定义, 也符合沙眼衣原体感染的定义, 则应归类为衣原体病。

B₁₂₄ 如何选择沙眼衣原体感染的诊断方法?

答: 诊断沙眼衣原体感染的方法很多, 但每种方法都有其一定的优缺点, 需根据检验的目的和当时的客观情况加以选用。

沙眼衣原体可以在敏感细胞中增殖, 在细胞中形成包涵体。对临床标本作姬姆萨染色或碘染色, 如发现有一定数量的具有特征形态的包涵体则可作出诊断。此种细胞学检查方法操作简便, 但仅适用于新生儿眼结膜刮片的检查, 对 NGU 检查不够敏感。

细胞培养是诊断和鉴定沙眼衣原体的金标准方法, 敏感性和特异性均高。但方法较复杂且较费时, 需有一定的设备和严格的无菌操作条件, 在一般实验室尤其是基层实验室较难开展。

直接免疫荧光法是将特异的衣原体单克隆抗体用荧光素标记后来检测标本中的衣原体。如在荧光显微镜下见到发苹果绿色荧光的原体(一张涂片原

体颗粒数在 10 个以上时), 结果可判为阳性。本试验的敏感性和特异性可分别达到 85% 和 95%, 约 1 小时即可出结果, 因而有些实验室将本法和衣原体培养并列为扩大的金标准方法。但此方法观察结果需高质量的荧光显微镜且受观察者主观因素的影响较大。

衣原体的酶免疫测定是利用酶标试验检测病人泌尿生殖道标本中的衣原体抗原的方法, 标本阳性时液体呈现颜色反应, 可用酶标仪检测出其透光度, 因此, 判断结果比较客观。本试验的敏感性为 60%~90%, 特异性为 92%~97%。缺点是一批试验需作 5 个对照。因此, 为节约试剂需将标本积攒起来成批地做。

检测衣原体的“立明”(clearview)试剂是将衣原体单抗的乳胶复合物吸附于滤纸上, 将滤纸夹在二块塑料板中间。如加入的标本中含有衣原体抗原, 则抗原与结合有乳胶的单抗结合, 复合物由于毛细作用向前扩散移动, 在结果窗中出现一条黑线, 标本即为阳性。本试验敏感性为 87%, 特异性为 98.8%。试验方法简单, 出结果快。但如标本中抗原含量低时可出现假阴性, 因此, 如试验阴性而病人持续有症状时应作衣原体培养。

以上这些方法有一定的适应范围, 各有其优缺点, 应根据条件和需要选用。应该指出, 性病的诊断需综合临床、流行病和检验结果全面考虑, 不应仅根据实验室结果轻率下结论。

B12 分子生物学方法诊断沙眼衣原体感染有什么进展?

答: 由于衣原体感染的各种常规诊断方法还存在一定的问题, 因此, 分子生物学尤其是聚合酶链反应(PCR)在衣原体感染的诊断中得到了广泛的应用。PCR 是一种在模板 DNA、引物和 4 种脱氧核糖核苷酸存在的条件下 DNA 聚合酶的酶促合成反应。它先通过加热变性使模板 DNA 双螺旋的氢链断裂, 解离成单链 DNA; 然后通过退火, 突然降温使引物与其互补的模板在局部形成杂交链; 然后在脱氧核糖核苷酸三磷酸底物和酶离子存在的条件下, 以引物为

起点, 使 DNA 片断得到大量复制。方法具有高度敏感性, 理论上只要有一个衣原体存在就能扩增出数百万个衣原体。因此, 此法在国外已得到广泛的应用。但试验需有严格的防污染措施, 严防极微量的微生物 DNA 污染试剂和实验用品造成假阳性结果, 或因标本中含有 Taq 酶抑制物而使 PCR 出现假阴性。

目前我国基层性病防治单位尚难做到规范操作, 国内有上百家 PCR 试剂盒生产单位, 试剂质量良莠不齐, 加上实验室设置不规范, 人员缺乏基本培训, 造成临床检验结果的混乱, 所以卫生部已于 1998 年 4 月下发了“暂停临床基因扩增检验的通知”。但 PCR 方法本身并不失为一种敏感和特异的方法, 相信通过对试剂和操作方法的规范化, PCR 在不久将会得到规范的应用。

连接酶链反应(LCR)是 1989 年提出的一种核酸扩增试验。这是由于 PCR 法有时由于引物和模板 DNA 部分片断的碱基同源而产生非特异性扩增使结果难以解释。与 PCR 不同, LCR 采用了两对寡核苷酸引物, 它们与靶碱基对结合, 又由连接酶将它们连接起来, 更增加了方法的特异性。连接产物的顺序与靶 DNA 顺序相同。连接产物变性后, 可作为引物的模板, 通过变性—复性—连接二三十个循环, 将连接产物扩增至 10^5 倍以上。由于用生物素和碱性磷酸酶标记物因而可以对扩增物进行检测。

衣原体核酸扩增技术的另一个进展是可用清晨首次尿(或禁尿 3 小时后的首次尿)作标本。据报告, 男性尿液标本以 PCR 或 LCR 作沙眼衣原体感染检测, 敏感性为 93.5%~100%, 特异性为 99.1%~100%, 而尿道拭子培养的敏感性平均为 68.2%。女性尿道标本以 LCR 检测沙眼衣原体的敏感性为 95.7%, 特异性为 100%, 而宫颈拭子培养的敏感性仅为 59.6%。由于尿液取材操作方便且对患者无侵害, 因此这种方法适合于在不同人群中进行大规模筛查, 也适合于边远地区采集标本后运送至中心实验室进行检测。

(收稿: 1999-05-10)