

## 血清流行病学进展

顾惠心

【作者简介】 顾惠心,女,1936 年 11 月出生,上海医科大学流行病学教研室教授。上海市艾滋病防治专家委员会副主任委员,上海市性病艾滋病防治协会理事《中华流行病学杂志》和《国外医学生物制品分册》编委。主要从事血清流行病学研究,参加“ A 型脑膜炎双球菌多糖菌苗预防效果研究”课题,获卫生部科技成果甲级奖。在虫媒病毒血清流行病学研究中,首次提出在我国人群中至少存在两种加利福尼亚血清群虫媒病毒感染的血清学证据,并提出甲群、乙群及加利福尼亚病毒虫媒病毒群在我国病毒性脑炎病例病因中各自作用及其地理分布概貌。在流感流行生态学的血清流行病学研究中,提出动物(特别是鸭)在流感流行生态学中重要作用以及不支持 Scholtissek 的“综合养鱼导致流感流行”假设的独特流行病学见解,为流感公共卫生政策制定及禽流感与流感关系提供重要参考依据。

血清流行病学研究始于本世纪 20 年代,首先由 Frost 用血清学方法测得纽约等地区各年龄组人群白喉免疫状态,后 Willams 应用诊断梅毒的华氏血清学试验窥察了巴的摩尔地区梅毒的分布和发病率,从而建立借助血清学方法检测人群血清中特异性抗体,研究传染病流行病学而发展起来的流行病学研究分支——血清流行病学。以后随着一些新学科、新技术的建立,其他学科和流行病学研究方法的进展以及医学卫生工作发展需要,血清流行病学在其用途、应用范围、检测方法和资料分析方法不断发展,日趋完善,成为医学卫生事业中一种重

要研究方法。现按上述进展内容叙述如下。

### 一、研究范围、用途、检查方法及项目

我国也不例外,自 50 年代后,特别 70 年代随着免疫学、流行病学等学科发展和新学科、新技术建立,血清流行病学研究范围不仅用于传染病,还用于慢性病、寄生虫病和血液病等疾病的研究。为了解疾病在人群中分布,探讨病因、流行规律和判断预防措施效果提供有力的客观依据,现分别叙述如下。

1. 疾病在人群中感染情况和免疫水平。如人群中各种传染病(如各型病毒性肝炎、虫媒病毒等)和寄生虫病(血吸虫病、囊虫病、疟疾、丝虫病等)感染情况。

2. 患病后免疫持久性和感染者的转归研究。如用我国分离的流行性出血热病毒适应 A-259 细胞后制备的点片抗原,用间接荧光抗体研究流行性出血热患者病后血清中特异性抗体持续时间。又如用血清学方法研究丙型肝炎感染后慢性转化率。

3. 应用于判断疾病严重程度指标和疾病筛检指标。如采用双抗体夹心酶联免疫吸附法,测定各型肝炎患者血清中可溶性白细胞介素 2 受体水平变化,以作为判定肝组织病变程度指标之一。又如应用分层整群抽样全国 8 个城市采用 Spria 法集中统一检测 HBsAg、抗-HBs、抗-HBc 三项指标进行乙肝感染情况调查分析,提出了在乙肝疫苗接种前只需筛检一项抗-HBc。新生儿和 0~3 岁幼儿可直接接种,为节省费用及达到有效预防效果提出了依据。

4. 疫苗免疫效果考核。已所众知,不再详述。

5. 疾病的流行特点及传染病传播方式的研究。如采用分层随机抽样对 11 个省市测定人群血糖进行糖尿病和糖尿

量低减患病率调查来查明我国糖尿病流行情况。又如应用血清学检测技术进行流行性出血热病毒在宿主动物间传播方式及其流行病学意义研究,阐述了在自然条件下主要宿主间存在水平和垂直持平等方式,其中以密切接触传播为主,经破溃皮肤感染为主要途径。这对流行性出血热疫源地的保存、延续、扩散和演变起了重要作用。

6. 疾病病因学研究。在我国对鼻咽癌和 EB(Epstein-Barr)病毒感染病因关系作了不少血清学流行病学研究,建立了含有 EB 病毒的细胞株及各种血清学试验。许多研究证实鼻咽癌病人血清中有特异性的 EB 病毒抗体。并在高发区的抗体水平较低发区为高,表明 EB 病毒与鼻咽癌有一定关系。目前还扩展应用于我国过去尚未发现疾病及原因不明疾病的病因的研究。用血清学流行病学方法研究我国人群中虫媒病毒感染,首次提出了在我国人群中至少存在两种血清型加利福尼亚(CAL)脑炎虫媒病毒感染的血清学证据,并提出了甲、乙、丙 CAL 三种主要虫媒病毒群在我国病毒性脑炎病例的病因中各自作用。又如对山东小姑娘杨晓露所患怪病“细菌协同性坏疽”以血清流行病学研究探讨了该病的最初病原菌及感染菌株与环境的关系。

7. 病原体的变异。如动物和综合养鱼技术与人类 A 型流感流行关系的血清流行病学研究,阐述了某些因素和流感病毒变异的生态学联系。

8. 疾病地理分布。如国内 23 个省市 16 个民族 2 300 余份 HBsAg 阳性血清标本分型,显示乙肝多数地区以 adr 亚型占优势,新疆、西藏等地少数民族几乎都为 ayw。血清流行病学不但用于上述研究,而且已成为我国疾病监测、预防接种策划及评价等日常卫生防疫工作中必不可少的方法,如 HIV/AIDS 哨点

监测,人群中对流感流行株免疫水平监测等。检测方法和项目不但由凝集、补体结合、中和和血凝抑制等老的血清学方法进展到 ELISA、放射免疫等敏感、特异新的血清学试验,来检测血清中特异抗原或抗体,而且广义来讲已扩展到用生化、细胞免疫、分子生物学和细胞遗传学等技术来检测血清中其它成分。如生化指标、营养成分和血细胞中某些遗传特征(如染色体、核苷酸序列等)。如对吸烟者淋巴细胞染色体畸变和微核形成观察,了解吸烟对人体细胞遗传物质损害是导致肿瘤发生的基本途径。又如对某地 HIV 阳性感染者外周血分离出淋巴细胞中某个核细胞,用分子生物学技术提取 DNA 进行 PCR 及核苷酸序列测定,提供了该地区 HIV 毒株型别,传入来源及传入年代的客观依据。

二、研究方法

1. 流行病学调查研究方法:除了应用传统流行病学中常用的横断面、重复横断面、纵向、病例对照和定群流行病学调查研究外,目前常应用发病调查,对人群中疾病的流行作出诊断。如参照朱既明建议,某地发生呼吸道感染疑似流感时,如能采集到患者或疑似患者成对的急性期和恢复期血清 10~20 例,如多数病例(10 例中有 7、8 例)的恢复期血清对某病病原体抗体滴度 ≥ 4 倍于急性期,可作初步诊断。如得不到成对血清或流行期已过,即可采取曾发病者和未发病者血清各 10~20 份与流感流行株抗原作补体结合试验。如多数发病者的抗体 > 1:16,而多数未发病者的抗体 < 1:16,也可作出初步诊断。或也可采集急性期病人与另一些恢复期病人血清各 10~20 份,测定其对当前流行株的 HI 抗体。如二者之几何平均值相差 ≥ 4 倍,即可作出初步诊断。但在选择二组对象时要注意年龄,既往史应均衡。这些方法在实践中证明确实可行,其思路可供群体中其它疾病流行诊断借鉴。

2. 试验方法选择及质量控制:目前血清流行病学调查不但对试验方法的选择要求经济、简易、安全、可靠、敏感和特异,特别注意到试验的质量控制。质量控制是以计数或计量资料的精密度和准

确度作为指标,考核或评定试验方法优劣,还包括技术操作员技能及试剂(不同批号、日期和不同生产单位等)的质量检验。如用定量指标表示的一些试验,精密密度测定的统计学指标可通过计算样本标准差,用变异系数(CV)来表示相对变异程度,CV 值越大,精密密度越差。以下简述两种计算方法:

(1) 样本数在 30 以下,  $s$  计算公式:

$$s = \sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 / (n - 1)}$$

$$CV = (s / \bar{x}) \times 100$$

式中  $x$  = 变量值,  $\bar{x}$  = 样本均数

(2) 样本数小于 10,也可采用 Dean 及 Dixon 方法估计  $s$ 。

例:有两种方法测定血糖,对照血清 2 d 测定结果如下:老方法测定值:98、96、99、103、97、98。则全距为 103 - 96 = 7,估计  $s$  = 全距 × 系数(可根据样本数查表 1 中系数) = 7 × 0.4 = 2.8, CV = 2.8%。新方法测定值:95、104、93、97、108、105。全距 = 108 - 93 = 15,估计  $s$  = 15 × 0.4 = 6, CV = 6%。

表1 根据样本数估计

样本数	系数
4	0.486
5	0.430
6	0.400
7	0.370
8	0.351
9	0.337
10	0.316

在定性指标表示的试验,用符合率来表示其精密密度。但必须指出由于不少新诊断方法常同时存在假阳性和假阴性问题。因此这样计算符合率常受就诊者中确为某病人比例大小的影响,尤其当假阳性率和假阴性率相差比较大时,影响更大。如用 A 法诊断方法诊断 100 例病人,其中胃癌病人 10 例,非胃癌病人 90 例(表 2),符合率为 (8 + 27) / 100 = 35%,但如 A 法诊断 100 例病人,其中胃癌 90 例,非胃癌 10 例,此时 A 法的符合率为 (72 + 3) / 100 = 75%(表 3)。由此说明同时用 A 法诊断胃癌,由于二批病人中确是胃癌病例的比例不同,所得符合率就大不相同。显然此时用符合率来评价 A 法诊断胃癌的优劣就不够好。评价 A 法诊断胃癌价值比较合理

的做法是用调整符合率,即调整符合率 = 1/4{[a/(a+b) + a/(a+c) + d/(c+d) + d/(b+d)] × 100%},来核对可能发生变异或以假阳性率和假阴性率表示。

表2 A 法诊断胃癌的符合率 (病人比例低)

A 法	参比试验	
	胃癌	非胃癌
+	8(a)	6(b)
-	2(c)	27(d)
合计	10	90

注:假阳性率 = 70% 假阴性率 = 20%

表3 A 法诊断胃癌的符合率 (病人比例高)

A 法	参比试验	
	胃癌	非胃癌
+	72(a)	7(b)
-	18(c)	3(d)
合计	90	10

注:假阳性率 = 70% 假阴性率 = 20%

用定量指标表示试验的准确性的测定,可在已知含量的血样本中再加一定量被检物质。与参比试验比较,观察这种检测试验能够准确测出的情况。并加入量与检出量间差数小于两种试验(检验和参比试验)差异标准差的 2 倍(2s)为准确。在用定性指标表示的试验,正如我们所知,可用敏感度、特异度指标来评价试验的准确性。

我们均知,血清流行病学研究的计数和计量资料常计算血清阳转率、抗体 4 倍增长率和几何平均滴度(GMT,用普通对数转换法)为指标来分析和评价所得结果。在计量资料分析中,目前我国常推广应用。1973 年 Colin White 在血清流行病学专著中介绍的“编码滴度(coded titer)”方法计算 GMT,此法较普通对数计算 GMT 的方法简便,特别是计算独立样本滴度或同体成对血清滴度比较的  $t$  值检验,如用编码滴度计算 152 例钩端螺旋体凝溶抗体几何平均滴度(表 4)。

由于一般血清稀释度均呈等比的 2 倍稀释,故血清稀释度转换成 2 为底的对数值计算编码滴度  $x' = \log_2(x/c)$ ,  $x$  为稀释度倒数,  $c$  为血清最初稀释度,比例为 10,则使编码滴度  $x' = \log_2(10/10) = \log_2(1) = 0$ ,其随之递比稀释度的编码滴度为 1, 2, 3, A 算术数。由此计算

编码滴度算术均数为  $\sum fx' / \sum f = 108 / 152 = 0.710 5$ 。再转换成普通均数  $\log(x/10) = 0.710 5 \times 0.301 = 0.213 9$ 。反对数后为 1.636。此值乘以最初的血清稀释度 10, 得  $1.636 \times 10 = 16.36$  为 152 例的几何平均滴度。除上述参数统计用于血清流行病学资料分析外, 还常用非参数统计法(如符号检验, Ridit 法, 顺序检验等)进行不同效价疫苗免疫后免疫效果考核的资料分析, 其优点是简单易算, 可应用于未知分布型资料。但也必须认识到如总体呈正态分布或转换成正态资料。非参数法检验显著性效能差于参数法, 此时如无效假设是正确的, 非参数法与参数法一样好, 但如无效假设是错误的, 则非参数法较差, 如需检验出同样大小的差异性, 要较多的样本容量。故资料分析时按实际情况和要求灵活应用。现举非参数统计方法之一符号检验叙述之。此法主要用于配对资料的差别显著性检验。如 26 对年龄、性别基本条件相同, 麻疹血清抗体阴性的麻疹易感儿, 分别注射 0.2 ml 和 0.5 ml 的麻疹疫苗, 注射后 1 个月测定两组抗体滴度其结果如表 5。试比较注射不同剂量两组间抗体滴度有何差别。

表5 注射不同剂量麻疹疫苗的两组间抗体滴度间差别

对象	剂量(ml)	
	0.5	0.2
1	40	20
2	40	20
3	20	40
4	40	40
5	20	40
6	40	20
7	40	20
8	72	40
9	25	20
10	20	36
11	20	20
12	40	20
13	30	40
14	20	36
15	20	40
16	40	20
17	20	40
18	96	40
19	20	40
20	80	20
21	40	50
22	36	40
23	25	36
24	5	20
25	20	20
26	20	20

表4 编码滴度计算 152 例乙脑 HI 抗体几何平均滴度

HI 滴度 (x 血清稀释度倒数)	例数 (f)	编码滴度 $x' = \log(x/c)$	$fx'$
10	99	$\log(x/10) = 0$	0
20	16	$\log(x/10) = 1$	16
40	24	$\log(x/10) = 2$	48
80	8	$\log(x/10) = 3$	24
160	5	$\log(x/10) = 4$	20
合计	152		108

设以注射 0.2 ml 疫苗抗体滴度高于注射 0.5 ml 为“+”号, 共计 12 对。注射 0.2 ml 后滴度低于注射 0.5 ml 为“-”号, 共计 10 对。4 对滴度相等的为“0”号。差数为“0”的对数不计入计算。现两者计数不等共  $12 + 10 = 22$  对。按无效假设, 应正负号各有一半, 即  $(12 + 10) / 2 = 11$ , 故其理论值  $t = 11$ , 然后用卡方检验注射不同剂量麻疹疫苗的两组抗体滴度间有无显著差别。

$$\chi^2 = \sum \frac{(|t - t'| - 0.5)^2}{t}$$

$$= \frac{(|12 - 11| - 0.5)^2}{11} + \frac{(|10 - 11| - 0.5)^2}{11}$$

$$= 0.045$$

$n' = 1, \chi^2 < \chi_{\alpha}^2 > 0.05, P > 0.05$ , 即两组抗体滴度间差别无显著性。

目前, 随着血清流行病学应用日益扩大, 世界卫生组织为协调各国血清流行病学工作, 设立血清参考中心, 西太区服务中心设在东京国立卫生研究所, 从长远目标出发, 如能在我国一些地区建立血清库, 对个人定期采血或在人群中选取具有代表性血清进行检测, 并加以长期低温保存, 可观察疾病罹患率, 病毒感染和慢性病关系以及某些生化指标与代谢关系等。故不但可作为其本人保健工作免疫学参考, 还可为开展世界范围内血清学调查提供先决条件, 并可使多目的研究开展更为频繁。特别当人们的认识发展, 新的检测方法建立, 在需要进行历史对比时, 既往血清中保存着的免疫或病理过程准确地再现成为极宝贵资料。如 1956 年印度新德里发生由饮水污染所致的肝炎流行, 当时以为是甲型肝炎, 20 多年后甲肝抗体的检测方法建立, 对低温保存的 20 多年的病人血清检

测甲肝抗体均为阴性的结果, 表明当时流行的肝炎并非甲型, 而非甲非乙型。这对我国血清流行病学研究工作给予很大启示。

### 参 考 文 献

- 1 Paul JR & Colin White. Serological Epidemiology. Academic Press, New York and London, 1973. 1-13, 19-30.
- 2 陈伯权, 刘琴芝, 周国芳. 我国一些地区人血清的虫媒病毒抗体调查. 中华流行病学杂志, 1983, 4: 263-266.
- 3 李世清, 罗兆庄, 王以良, 等. 流行性出血热患者病后血清中特异性抗体持续时间的调查. 中华流行病学杂志, 1983, 4: 285-287.
- 4 宣世莫, 姜岭梅, 吕维红, 等. 肝病患者检测血清可溶性白细胞介素 2 受体的意义. 中华流行病学杂志, 1997, 18: 92-94.
- 5 王克安, 李天麟, 向红丁, 等. 中国糖尿病流行特点研究——糖尿病及糖耐量减低患病率调查. 中华流行病学杂志, 1998, 19: 282-285.
- 6 武汉医学院主编. 鼻咽癌. 耳鼻咽喉科学. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 103.
- 7 Gu HX, Artsob H, Lin YZ, et al. Arboviruses as etiological agents of encephalitis in PRC. Trans Roy Soc Trop Med Hyg, 1992, 86: 198-201.
- 8 顾惠心, 胡善联, 杨志刚, 等. 综合养鱼与人类甲型流感流行的关系. 中华流行病学杂志, 1996, 17: 29-32.
- 9 金银龙, 王汉章, 顾衍, 等. 吸烟者淋巴细胞染色体畸变和微核形成观察. 中华流行病学杂志, 1997, 18: 40-42.

(收稿日期: 1999-07-13)