中华流行病学杂志1992年第13卷第4期

分子流行病学研究及其应用

I. 分子流行病学的产生和定义

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所* 段广才 祁国明

近年来，分子生物学理论和技术的飞速发展，使整个医学正在经历一场革命。分子流行病学(Molecular Epidemiology)作为分子生物学理论和技术与流行病学相结合的产物也应运而生，正在医学实践中起着重要作用，显示出美好的前景。为便于广大读者对其有一较为全面、深刻的了解和认识，我们拟从分子流行病学的产生、定义、研究内容、主要研究手段，以及在传染性疾病、遗传性疾病、慢性疾病和健康状态等研究方面的应用作一概要介绍，以抛砖引玉并促进本学科的普及和发展。

分子流行病学的定义

分子流行病学是近十几年来新兴的流行病学分支，正处在成型阶段，国内外学者尚未给它下一个完整的定义。鉴于分子流行病学刚开始主要应用于传染性疾病的传染源追踪和传播途径的分析，有些学者提出分子流行病学主要是对造成某一疾病流行的病原体，在基因水平上进行分析，从而更准确地解决传染源和传播途径以及有关流行病学问题；也有学者认为，分子流行病学是一些分子遗传学指标在调查传染源中的应用；还有学者认为，分子流行病学是应用分子生物学技术研究流行病学问题，等等。这些提法虽对分子流行病学概念的形成有一定作用，但仍不能算作定义。就一门学科而言，没有定义意味着它不成熟。定义不恰当，也会影响其发展。如定义内涵过小或过大，会使学科发展迷失方向或受到限制。结合当前医学和流行病学发展的实际情况，作者暂定义如下：分子流行病学是利用分子生物学原理和技术，从分子乃至基因水平上研究医学事件在人群和环境生物群体中的分布及其决定因素和调控手段的学科。

由上述定义可以看出，分子流行病学的研究对象是人群和环境中生物群体。这些生物群体主要指与人类健康和疾病密切相关的生物群体，我们暂且称其为人相关生物。如细菌、病毒、寄生虫、医学昆虫等。虽然自然界的生物与人类都有关系，但与健康和疾病密切相关的，仅是其中一小部分。分子流行病学研究的内容是从分子乃至基因水平阐明医学事件的分布及其决定因素和调控手段。这里有两点与所谓的普通流行病学不同，一是从分子及基因水平阐明医学事件的分布，而不同于普通流行病学从大体或表型上阐述分布。二是这里的医学事件较普通流行病学中的范围要小一些，因为分子流行病学只研究生物学的事件，而无法研究非生物学事件。这些事件至少应包括人类疾病、健康状态、病原生物及媒介生物特征等。最终要确定调控分布的有效手段，防治疾病，促进健康。当然，随着本学科及相关学科的发展，研究内容会更深，范围会更广。上述定义还表明，分子流行病学之所以归属流行病学，是因为其仍是应用群体调查研究方法，来解决流行病学中事件的分布是什么，为什么，怎么办的一系列课题。

分子流行病学的产生和发展

分子流行病学的产生和发展，是分子生物学理论和技术的发展与流行病学发展相结合的产物，也是这两门学科各自发展的必然结果。

一、流行病学发展简史：流行病学是一门古老而年轻的学科。虽然它萌芽甚早，但直到近代才形成独立的学科，当代才得以迅速发展。

所谓疾病就是人类在其正常生命过程中，由于宿主、病因和环境三者关系的失衡而造成的异常状态。在人类早期，随着意识的产生，就感受到了疾病的存在。进而，通过长期在生产、生活中的观察积累，逐渐认识到一些疾病与某些事件的关系，并懂得如何避免疾病的发生。这是流行病学的萌芽，也可以称其为经验流行病学。如公元前五百年《春秋襄公十七年传》记载，“国人逐瘈狗”。说明对狗与狂犬病的关系已有认识。《晋书王彪之传》记载，“永和末(公

*北京，邮政编码 102206

元356年）多疾疫，旧制朝臣家有时疾染易三人以上者，身虽无疾，百日不得入宫。”表明当时对传染已有一定认识。这些认识都不是个别现象的偶然观察，而是对群体中频发事件的总结和升华。是流行病学的萌芽，

从经验流行病学到近代流行病学是流行病学发展成为独立学科的一段时期。这一阶段流行病学不仅研究疾病（主要是传染病）的传播问题，而逐渐认识到疾病现象的分布情况。如英国学者Snow于1848年根据伦敦宽街地区霍乱流行爆发中的地区、时间和人群分布，论证了霍乱流行与饮用被粪便污染的水有关。不仅推翻了当时很盛行的“瘴气”学说，而且比霍乱弧菌发现早三十多年就确立了霍乱的病因。

当代流行病学或现代流行病学可以说是流行病学发展壮大的时期。这主要表现在以下几个方面。

1．流行病学观念上有重大突破，即认识到疾病流行到不流行是一个连续的分布过程。

2．研究内容极大丰富。不仅研究疾病，而且也研究健康状态、意外事故等医学事件。

3．研究对象不仅限于人群，而且也研究与人群疾病和健康有关的生物群体，如医学昆虫、鼠类、健康菌群等，甚至研究环境中化学元素的分布等。

4．研究方法越来越多，并不断科学化、现代化。

5．及时吸收其它相关学科的研究成果，不断丰富流行病学的研究内容，从而使其分支层出不穷。

二、分子流行病学的产生和发展：分子流行病学的产生和发展主要决定于两大方面：一是流行病学的发展中产生了许多用普通流行病学方法所不能解决的难题，因而迫切要求有新的分枝学科来完成这些课题。二是分子生物学理论和技术的大发展为分子流行病学的产生奠定了基础。

1.现代流行病学在发展中遇到的难题：首先，在对传染病的病原体的研究中，一般的表型研究已不能满足流行病学的需要，而要求从分子及基因水平阐明病原体的特征、进化变异规律及其群体分布等。从而为更准确地查踪传染源、分析传播途径及疾病监测和流行预测提供科学依据。

其次，整个医学都是为了保障和促进人类的健康。流行病学当然也是如此。而人体疾病是宿主、病因和环境三者关系的失衡，作为内因的宿主在发病与否中起着重要作用。如传染病的易感水平，非传染病的易患程度，以及各类遗传性疾病的控制更显示出研究人群的重要性。但要从根本上阐明人群中的个体差异，就必须从分子及基因水平进行人群研究。

再次，实验医学的一些研究从分子水平提出了很多病因假设，但人群中又是如何呢？迫切需要流行病学有所作为。如癌基因的异常表达在肿瘤发生中的作用以及与心血管疾病的关系等。鉴于这诸多原因，分子流行病学的产生也就不可避免了。

2．分子生物学的发展为这门学科奠定了基础：分子生物学经过几十年的发展，尤其是近十几年来的飞速发展，对整个医学领域都有很大的影响。首先是分子生物学理论的发展，一个基因一种酶学说的提出，DNA是遗传物质的验证，DNA双螺旋结构学说的提出以及遗传密码的破译，基因的表达及调控等理论的发展，使许多医学难题得以解决。其次，各项电泳技术、色谱技术的发展，使生物大分子物质可以得到准确的分离和提纯，尤其是近十几年来，分子遗传学技术的发展使人们可以从分子及基因水平研究各种生物的基因型及其及表达产物。如应用限制性内切酶可以研究不同遗传位点的遗传多态度及基因连锁关系；应用核酸分子杂交技术可以研究特定的基因片段；应用核酸序列分析和PCR技术可以检测出特定基因内仅有一个碱基突变的异常基因；应用多位点酶电泳法不仅可以对病原生物进行基因水平的分型和分类，而且还可以研究其群体遗传结构和进化变异规律。所有这些都为分子流行病学的产生和发展奠定了良好的基础。

3．分子流行病学的产生和发展：多年来，由于临床上大量抗生素的应用，使病原体的抗药性问题越来越受到人们的重视。在医院获得性感染和传染性疾病的爆发中，人们发现同一次爆发有时可以分离到不同型的病原体，但其抗药性却往往相同。这些菌株间的关系如何，常给流行病学工作者带来困扰。在抗药质粒的发现以后，人们自然想到了检测质粒谱或质粒酶谱来判断这些菌株间的关系，从而研究传染来源及传播关系。这些都是分子流行病学产生的萌芽。进之人们发现，在研究传染病的病原体时应用分子生物学技术作为检测手段，不仅稳定、可靠，而且灵敏度高，可以从分子水平上阐明一些以前无法解决的难题。所以传染病的分子流行病学研究也就应运而生了。如1973年以后，从美国海湾地区不断分离出产毒的O1群霍乱弧菌，但此地区并无霍乱的流行。这些菌株与其它地区流行的菌株有何关系，长期以来未能解决。1982年Kaper等利用大肠杆菌的LT基因作探针，对美国海湾地区1973年到1981年间从病人和外环境中分离的产毒O1群霍乱弧菌进行染色体DNA的

Southern 转印杂交分析，发现这些菌株具有独特的带型，而不同于世界上其它地区流行的埃尔托型霍乱弧菌。从而认为海湾地区是一个地方性疫区，且已存在多年。解决了流行病学上长期困惑的问题。再比如Olyheok等对联邦德国1915～1963年分离的A群流脑奈瑟氏菌进行多位点酶电泳(简称MEE)分型，共分为[5]5个型、21个克隆系。结果表明，绝大多数一次流行和爆发是由一个克隆系引起的，或有一个优势克隆系。自1915年以来，多次的流行均由其中7个克隆系引起。进而还表明，过去六十余年来，世界范围内所有主要的流脑流行仅有11个克隆系引起，并且其中3个克隆系的菌株是造成六十年代以来大流行的病原体。

近十余年来，分子流行病学已发展成为一门独立的分支学科。其研究内容日渐丰富，它不仅研究传染性疾病的病原体、媒介生物及人群易感性等，而且也研究遗传及代谢性疾病、肿瘤和心血管病等慢性病、健康状态以及某些人类学的课题。在检测手段上已从简单的质粒谱及DNA酶谱分析，发展到应用各种特异的基因探针及PCR技术、酶学技术、蛋白质技术、单克隆抗体技术等。因此可以认为，今后一、二十年内，随着分子生物学的进一步发展和普及，众多的流行病学研究必将是分子水平的。在防治疾病、促进健康的伟大事业中，分子流行病学在发展自身的同时，将作出巨大的贡献。

手指血检测乙型肝炎表面抗原的初步探讨

安徽省六安市卫生防疫站* 丁以惠 吕晓华 项应芬 朱勤义 王慧鸣 袁传芳

在急性HBV感染后，HBsAg为出现最早的标志。国内多采用RPHA检测HBsAg，一般采用静脉抽血，用血量多，群众不易接受，给工作带来一定的困难。我们探索用手指采血（简称指血法），与静脉抽血(简称静血法）同时以RPHA法检测HBsAg，取得了满意的效果。

一、材料和方法：

1.HBsAg诊断血球、抗-HBs血清均为卫生部北京生物制品研究所生产。在失效期内使用。

2.血红蛋白吸管、三棱采血针。无菌生理盐水、稀释棒、96孔V型反应板、0.025ml定量滴管。

3.采样：于康氏试管中加入0.28ml无菌生理盐水，用血红蛋白吸管从手指采血40μl置于盐水中，混匀、静置，待血球沉降后，用上清液（稀释度为1：8）直接做实验。

4.实验方法：初筛静血法4孔（1：2～1：16），指血法3孔（1：8～1：32），用稀释棒稀释，按RPHA法进行。以血凝滴度1：16“卄”凝集的为初筛阳性，阳性者分别做中和试验。

中和试验静血法12孔，指血法10孔，凡测定排血球凝集高于对照排两孔以上为HBsAg的特异性凝集。试验同时做阳性血清、阴性血清、诊断血球和中和抗体对照。

二、实验结果：

1.静血法和指血法标本HBsAg检出率的比较：两法同时检测HBsAg阴性227人和阳性44人，结果完全一致，符合率为100%。

2.两种采血方法的血凝滴度变化：在44份HBsAg阳性标本中，血凝滴度相同的有27份，占61.4%，比静血法高一个滴度的有9份，占20.4%，比静血法低一个滴度的有8份，占18.2%。经统计学处理，静血法G=1：73，指血法G=1：74，$t=0.067$，$P>0.50$。可见，两法血凝滴度的结果是一致的。

三、讨论：静血法和指血法同时检测血标本HBsAg 271份，两法均阴性227份，阳性44份，结果完全相符。

在44份阳性标本中，血凝滴度相同的有27份，比静血法高一个滴度的9份，比静血法低一个滴度的8份，统计学处理$t=0.067$，$P>0.50$，表明指血法结果准确，可靠。

---

* 邮政编码 237006