

混合血清检测在寄生虫病血清流行病学调查中的应用

陈颖丹 王聚君 周长海 许隆祺

【摘要】 目的 通过旋毛虫病、弓形虫病血清学检测,探讨了混合血清检测(混检)在寄生虫病血清流行病学调查中的应用及对成本-效果的影响。方法 根据二项分布原理,探讨混合血清检测的可行性。旋毛虫病或弓形虫病血清学检测,采用 3、5、10 份等三种混检方法。同时对血清样品逐一检测和混合检测进行了成本-效果评价。结果 只要混有 1 份弱阳性血清,旋毛虫病或弓形虫病的三种混检都呈阳性结果。如果混合的血清全部是阴性,旋毛虫病 3、5、10 份阴性血清样品混合各检测 24 组,全部呈阴性;弓形虫病 3、5 份阴性血清样品混合,检测 12 组,都呈阴性,10 份阴性血清样品混合,检测 18 组中 16 组呈阴性,2 组呈阳性。旋毛虫病或弓形虫病混检显示,混检效率与待检寄生虫血清学阳性率有关,血清学阳性率在 10% 时,4 份混检效率较高,血清学阳性率在 1% 时,以 10 份混检效率较高,而当血清阳性率在 0.1% 时,增加混检样品数可明显减少检测次数,但前提条件是要保证混检样品中只要有 1 份阳性样品,混检时都能测出阳性,而且若全部是阴性样品混检,也不出现阳性。结论 运用卫生经济学成本-效果分析,表明寄生虫病血清流行病学调查,混检成本低,尤其是对预期血清学阳性率较低($\leq 1\%$)的调查,混检可节省大量成本。

【关键词】 血清流行病学;混合血清检测;成本-效果分析

Study on the mixed testing of serum samples in seroepidemiological survey of parasitic diseases CHEN Ying-dan, WANG Ju-jun, ZHOU Chang-hai, XU Long-qi. Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Diseases Control and Prevention, Shanghai 200025, China

【Abstract】 Objective In order to accumulate experiences for improving the efficiency in serological tests, the present study on mixed testing of serum samples was performed by taking the serological test of trichinellosis and toxoplasmosis as the examples, and had proved the effects on cost-effectiveness of seroepidemiological survey of parasitic disease with method of mixed-samples test. **Methods** According to the binomial distribution principle, to develop an approach to the feasibility of mixed testing of serum samples, and to work on a cost-effectiveness analysis of one-by-one testing and mixed testing using hygienic economic analysis method was performed. For serological test of trichinellosis and toxoplasmosis, 3 kinds of mixed testing methods, namely 3 serum sample mixture, 5 serum sample mixture and 10 serum sample mixture, were performed. **Results** The results showed that all the 3 kinds of mixed tests of trichinellosis and toxoplasmosis showing positive result if only 1 weak positive serum sample were mixed with. When the serum samples being mixed were all negative ones, then among the 24 groups tested with each kind of negative serum sample mixture of trichinellosis (3 serum samples, 5 serum samples and 10 serum samples), they all showed negative. However, among the 12 groups tested with 2 kinds of negative serum mixture of toxoplasmosis (3 serum samples and 5 serum samples), all showed negative while among the 18 groups tested with the 10 serum sample mixture, 16 groups showed negative and 2 were positive. The mixed testing of trichinellosis and toxoplasmosis showed that the efficiency of mixed testing was related to the serological positive rate of the parasitic diseases to be examined. When serological positive rate was 10%, the efficiency of mixed testing was higher in 4 serum sample group. When serological positive rate was 1%, the efficiency of mixed testing was higher in 10 serum sample group and when serological positive rate was 0.1%, the increase of the size of mixed serum samples could decrease the number of testing, but the prerequisite was that there must be one positive sample, so that the positivity for all the mixed tests could be detected. If mixed testing were performed on all negative samples, no positivity could be detected. **Conclusion** The result of cost-effectiveness analysis demonstrated that for seroepidemiological survey of parasitic diseases, the cost for mixed testing was low, especially when the serological positive rate was expected low ($\leq 1\%$), thus the mixed testing could save a large amount of the cost.

基金项目:卫生部“十五”科技重大资助项目(卫疾控发[2001]178号)

作者单位:200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心

[Key words] Seroepidemiological survey; Mixed testing of serum samples; Hygienic economic cost-effectiveness analysis

在 2001 - 2004 年进行的我国人体重要寄生虫病现状调查中包括了寄生虫病血清流行病学调查,共需检测 344 726 份血清样品,其规模之大在国内外尚属首次,调查中不仅需要收集大量血清样品,对每份样品做实验室检测,而且需要大量的试剂盒,花费很多的时间。为了今后进一步提高血清学检测的效率,同时在样品阳性率不高的情况下,如何节约人力、物力,为此我们探讨了采用混合血清检测(混检)的方法。混检是将 N 个样品分成 n 组,每组 m 个样品,即 $N = mn$ 。混检方法的前提条件就是当每组中混合样品的 m 个原始样品中只要有一个样品阳性,该组混合样品就呈阳性。某个组一旦为阴性,对这个组中 m 个原始样品就可都判为阴性样品。某个组一旦检测为阳性,就需对该组 m 个原始样品作逐一检测。虽然混检可大大减少检测的次数,节约人力、物力和时间。但以往实验提示粪便检查寄生虫卵或血液检查丝虫病患者微丝蚴,由于虫卵或微丝蚴在样品中分布不均,混检效果不理想,本实验对血清学检测抗体采用混检方法进行探讨。

材料与方 法

1. 材料:①旋毛虫病、弓形虫病阳性血清和阴性血清;②旋毛虫 IgG 抗体 ELISA 试剂盒、弓形虫 IgG 抗体 ELISA 试剂盒;③样品稀释液(IgG)。

2. 方法:

(1)混检血清浓度配制:将 3、5、10 份待检血清样品混合在一起,混合后加一定量稀释液,保证每份待检血清在混合血清稀释后的浓度与单独检测时浓度一致(表 1)。

表1 血清混检浓度配制表

混合份数	份血清量(μl)	混合血清量(μl)	加稀释液量(μl)	混合血清总量稀释比例	每份血清稀释比例
3	10	30(3×10)	970	1:33	1:100
5	10	50(5×10)	950	1:20	1:100
10	10	100(10×10)	900	1:10	1:100

(2)阴、阳性血清混合法:①全部阴性血清样品混合;②1 份弱阳性血清(大于或等于临界对照 A 值平均值),其余均为阴性血清样品。

(3)检测步骤:按每种寄生虫 IgG 抗体 ELISA 试剂盒操作步骤进行,混检结果如果为阴性,则表示

本组混合血清中每份血清样品均为阴性,若是阳性,则需对本组混合的每份血清样品逐一检测。

结 果

1. 血清不同混检:旋毛虫病或弓形虫病血清学检测,采用 3、5、10 份三种混合血清检测法,实验结果表明,只要混有 1 份弱阳性血清,旋毛虫病或弓形虫病的三种混合检测都呈阳性结果。如果混合血清全部是阴性,则旋毛虫病 3、5 或 10 份阴性混合血清各检测 24 组,全部呈阴性;弓形虫病 3、5 份阴性混合血清,检测 12 组,都呈阴性,10 份阴性混合血清,检测 18 组,16 组呈阴性,2 组呈阳性(表 2)。

表2 寄生虫病调查血清不同混检结果

血清混合法	旋毛虫病		弓形虫病			
	组数	+	组数	+		
3 ⁻	24	0	24	12	0	12
2 ⁻ + 1 ⁺	20	20	0	12	12	0
5 ⁻	24	0	24	12	0	12
4 ⁻ + 1 ⁺	20	20	0	12	12	0
10 ⁻	24	0	24	18	2	16
9 ⁻ + 1 ⁺	20	20	0	18	18	0

注:3⁻表示 3 份阴性混合血清,其他类同;2⁻ + 1⁺表示 2 份阴性混合血清加 1 份弱阳性血清混合,其他类同

2. 混检效率和混合样品数的关系:如根据以往资料,某地区旋毛虫血清阳性率为 0.1%,要对该地 5000 名居民进行血清学检测,采用常规逐一检验,则需检测 5000 次,若是采用混检,5 人份混合血清,或 10 人份混合血清,如结果为阴性,5 人份或 10 人份混合血清一组只要检测一次,若为阳性,则对 5 人份或 10 人份血清逐一检验,分别检测 6、11 次。根据二项分布原理,可以计算出 5 人份或 10 人份混合血清一组混检可以减少的检测次数^[1-3]。计算方法:

先设每组 5 人需检测的次数: $X_i (i = 1, 2, \dots,$

$\frac{n}{5})$, 因此总的检测次数 $X = X_1 + X_2 + \dots + X_{n/5}$ 。由题意可知,各 X_i 独立的分布,且 $X_i \sim B(5, 0.001)$, 即 $P = 0.001, q = 0.999, m = 5$ 的二项分布。于是, X_i 的分布为:

$$\begin{pmatrix} 1 & 6 \\ q^5 & 1 - q^5 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 6 \\ (0.999)^5 & 1 - (0.999)^5 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 6 \\ 0.995 & 0.005 \end{pmatrix}$$

$$E(X_i) = 1 \times 0.995 + 6 \times 0.005 = 1.025(\text{次})$$

根据 $p(X \leq k) = \sum_{m=0}^k C_n^m p^m q^{n-m}$, 可得:
 $E(X) = E(X_1 + X_2 + \dots + X_{n/5}) = (n/5)E(X_i)$
 $= (n/5)1.025 = \frac{1.025n}{5} = 0.205n$

若 $n = 5000$, 则 $EX_5 = 0.205n = 0.205 \times 5000 = 1025$ 次, 同理, 10 人份混合血清, $EX_{10} = 0.110n = 0.110 \times 5000 = 550$ 。

3. 混检效率与被检寄生虫血清阳性率的关系: 混检效率不仅与混检样品数有关, 且与调查的寄生虫血清学阳性率有关。表 3 就是混检样品数、待检寄生虫血清学阳性率与检测次数的关系。

表3 不同阳性率 5000 份血清样品混合检验次数

p	m	q^m	$1 - q^m$	$E(X_i)$	$\frac{n}{m}E(X_i)$	5000 份血清 检测次数
0.1	3	0.729	0.271	1.813	0.604n	3022
0.1	4	0.656	0.344	2.376	0.594n	2970
0.1	5	0.590	0.410	3.050	0.610n	3050
0.1	10	0.349	0.651	7.510	0.751n	3755
0.1	20	0.122	0.878	18.560	0.928n	4640
0.01	3	0.970	0.030	1.090	0.363n	1815
0.01	4	0.961	0.039	1.156	0.289n	1445
0.01	5	0.951	0.049	1.245	0.249n	1245
0.01	10	0.904	0.096	1.960	0.196n	980
0.01	20	0.818	0.182	4.640	0.232n	1160
0.005	3	0.985	0.015	1.045	0.348n	1740
0.005	4	0.980	0.020	1.080	0.270n	1350
0.005	5	0.975	0.025	1.125	0.225n	1125
0.005	10	0.951	0.049	1.490	0.149n	745
0.005	20	0.905	0.095	2.900	0.145n	725
0.001	3	0.997	0.003	1.009	0.336n	1682
0.001	4	0.996	0.004	1.016	0.254n	1270
0.001	5	0.995	0.005	1.025	0.205n	1025
0.001	10	0.990	0.010	1.100	0.110n	550
0.001	20	0.980	0.020	1.400	0.070n	350

由表 3 可见血清学阳性率在 10% 时, 4 份混检效率较高, 但血清学阳性率为 1% 和 1% 以下时, 4 份混检效率低于 5 份和 5 份以上混检。血清学阳性率为 1% 时, 10 份混检效率较高, 而当血清阳性率在 0.1% 时, 增加混检样品数可明显减少检测次数。

讨 论

混检的前提条件是要保证样品中只要有 1 份阳性样品, 就能检测出阳性结果, 反之若样品全部为阴

性混合, 也不能出现阳性。本次以旋毛虫病和弓形虫病混合血清检测为例, 探讨了混检方法, 表明寄生虫血清流行病学调查中可以采用此方法。

混检效率虽然与混合样品数及被检寄生虫血清阳性率有关, 但不同寄生虫病血清进行混检, 每组最多可以混合样品数可不相同。本次实验结果表明, 检测旋毛虫病血清每组最多混合样品数为 10 份, 弓形虫病血清每组最多混合样品数为 5 份。其他寄生虫病血清混检每组最多混合样品数量有待今后进一步探讨。

混检可以减少检测次数、节约人力、物力和时间。对本次寄生虫病调查进行成本-效果分析。血清检测的成本可以分为二部分: ①采血、分离血清、运输冷藏等费用; ②试剂盒费用、测试器材和测试仪器耗损费及测试人工费。本次检测达到单位效果所需的平均成本: 即每检出 1 份阳性血清所需的成本 = $\frac{\text{人均检测成本(元)} \times \text{总检查人数}}{\text{血清阳性人数}} \times 100\%$ 。如要对某寄生虫血清阳性率为 1% 地区 10 万人群进行混检, 可计算出逐份检测、5 人份、10 人份混合血清检测总成本和达到单位效果所需的平均成本。由表 4 可见, 混检可以节省大量成本, 特别是对预期血清阳性率较低 ($\leq 1\%$) 应用混检其成本降低尤为明显。

表4 10 万人份血清样品逐一检测与混检成本-效果比较 (血清阳性率为 1%)

检测形式	检测人份数	总成本 (万元)	每检出 1 例阳性成本 (元)
逐份检测	100 000	100.0	1000
5 人份混检	24 900	24.9	249
10 人份混检	19 600	19.6	196

参 考 文 献

- 1 金丕焕, 主编. 医用统计方法. 第 1 版. 上海: 上海医科大学出版社, 2000. 188-194.
- 2 杨树勤, 主编. 中国医学百科全书 医学统计学. 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 21-22.
- 3 杨树勤, 主编. 卫生统计学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 69-75.

(收稿日期: 2006-06-02)

(本文编辑: 张林东)