

用贝叶斯方法对日本血吸虫感染两种检测方法进行评价*

王显红¹ 周晓农^{1△} 李远林² 吕 山¹ 李兰花¹ 贾铁武¹ 陈绍荣² 杨 忠² 方 文² 陈 凤²

【提 要】 目的 探讨估计日本血吸虫感染两种检测方法(ELISA 和 Kato-Katz)在现场应用时的灵敏度和特异度的新方法。方法 采用贝叶斯(Bayes)统计方法,利用 2005 年云南省洱源县现场调查资料,对两种方法在流行区和非流行区应用时的检测效果分别进行了评价。结果 在流行区,ELISA 灵敏度较高(0.913,中位数,下同)而特异度较低(0.584),Kato-Katz 法灵敏度低(0.148)而特异度很高(0.994);在非流行区,ELISA 灵敏度为 0.766,特异度为 0.908,Kato-Katz 法灵敏度和特异度与其在流行区的相似。结论 在无金标准的情况下,Bayes 方法能够对检测方法做出科学的评价。

【关键词】 贝叶斯统计 ELISA 改良加藤法 灵敏度 特异度 日本血吸虫

日本血吸虫病流行于我国南方 12 省(市、区),至 2004 年底,已有广东、上海、福建、广西、浙江 5 个省、直辖市、自治区阻断了血吸虫病的传播,湖南、湖北、江西、安徽、江苏、四川和云南等 7 省的 109 个县、市(区)仍处于传播状态^[1]。对这些地区血吸虫感染率的正确估计有助于了解该病的流行状况,为卫生决策提供参考依据。对感染率的正确估计依赖于检测手段,目前用于检测血吸虫感染的方法主要有病原学和血清学检查方法,其中改良加藤法(Kato-Katz)在现场中应用普遍,但其低灵敏度问题已受到广泛关注^[2]。而血清学检查方法(如 ELISA)已越来越多地应用于现场的血吸虫病检测,但受交叉反应、既往感染等因素的影响,在现场应用于感染率评价时其特异度较低^[2]。在血吸虫感染的现场检测中,由于缺乏灵敏度和特异度均为 100%的“金标准”,用传统的方法难以对现场所用的检测方法做出正确评价。故本文根据贝叶斯(Bayes)统计原理,对检测血吸虫感染的两种方法(ELISA 和 Kato-Katz)进行了评价。

资料与方法

1. 资料来源

在云南省大理州洱源县随机抽取 35 个行政村,每村随机抽取 30 户,于 2005 年 11 月对其中年龄在 6~65 岁的村民进行调查,同时收集粪样和血样,病原学检查采用 Kato-Katz 法(1 送 4 检),血清学检查采用深圳市康百得生物科技有限公司生产的同批次血吸虫抗体检测 ELISA 试剂盒。所有调查由云南省大理州

血吸虫病防治研究所组织实施,调查前统一培训,调查结束后,将资料分别按流行区、非流行区整理,汇总检查人数及其检查结果。

2. 分析方法

(1) Bayes 模型的建立

设 n_i 为同时进行 ELISA 和 Kato-Katz 法检查的总人数,其中 $i=1$ 为流行区, $i=2$ 为非流行区(下同), $t_{11i}, t_{12i}, t_{21i}, t_{22i}$ 分别为 E+K+, E+K-, E-K+, E-K- 的实际人数(E: ELISA, K: Kato-Katz 法,“+”: 阳性,“-”: 阴性),对应的真值分别为 $Y_{11i}, Y_{12i}, Y_{21i}, Y_{22i}$ 。假设 ELISA 和 Kato-Katz 法的检测结果相互独立,设向量 $t_i = (t_{11i}, t_{12i}, t_{21i}, t_{22i})$,则 t_i 服从独立多项分布^[3]:

$$t_i \sim \text{multinomial}((pt_{11i}, pt_{12i}, pt_{21i}, pt_{22i}), n_i)$$
 (1)

其中, $pt_{11i}, pt_{12i}, pt_{21i}, pt_{22i}$ 分别为 E+K+, E+K-, E-K+, E-K- 的概率:

$$pt_{11i} = p_i Se_{1i} Se_{2i} + (1 - p_i)(1 - Sp_{1i})(1 - Sp_{2i})$$
 (2)

$$pt_{12i} = p_i Se_{1i}(1 - Se_{2i}) + (1 - p_i)(1 - Sp_{1i})Sp_{2i}$$
 (3)

$$pt_{21i} = p_i(1 - Se_{1i})Se_{2i} + (1 - p_i)Sp_{1i}(1 - Sp_{2i})$$
 (4)

$$pt_{22i} = p_i(1 - Se_{1i})(1 - Se_{2i}) + (1 - p_i)Sp_{1i}Sp_{2i}$$
 (5)

其中, p_i 为血吸虫感染率, Se_{1i} 和 Sp_{1i} 分别为 ELISA 的灵敏度和特异度, Se_{2i} 和 Sp_{2i} 分别为 Kato-Katz 法的灵敏度和特异度。

在上述分布中, t_i 为样本信息, $p_i, Se_{1i}, Sp_{1i}, Se_{2i}, Sp_{2i}$ 为待估计的参数,根据 Bayes 原理,可构建相应似然函数:

$$l((t_{11i}, t_{12i}, t_{21i}, t_{22i}, Y_{11i}, Y_{12i}, Y_{21i}, Y_{22i}) | \pi_i, Se_{1i},$$

* 国家自然科学基金重大项目(编号 30590373)、联合国儿童基金会/联合国开发署/世界银行/世界卫生组织热带病研究与培训特别规划署资助项目(TDR A30298)

1. 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所(200025)

2. 云南省大理州血吸虫病防治研究所(671000)

△通讯作者:周晓农, Email: ipdzhounx@sh163.net

$$Sp_{1i}, Se_{2i}, Sp_{2i})$$
$$= (p_i Se_{1i} Se_{2i})^{Y_{11i}} ((1 - p_i)(1 - Sp_{1i})(1 - Sp_{2i}))^{t_{11i} - Y_{11i}}$$
$$(p_i Se_{1i}(1 - Se_{2i}))^{Y_{12i}} ((1 - p_i)(1 - Sp_{1i})$$
$$Sp_{2i})^{t_{12i} - Y_{12i}} (p_i(1 - Se_{1i}) Se_{2i})^{Y_{21i}} ((1 - p_i)$$
$$Sp_{1i}(1 - Sp_{2i}))^{t_{21i} - Y_{21i}} (p_i(1 - Se_{1i})(1 - Se_{2i}))^{Y_{22i}}$$
$$((1 - p_i) Sp_{1i} Sp_{2i})^{t_{22i} - Y_{22i}} \quad (6)$$

似然函数综合了样本信息和待估参数的总体信息,再结合待估参数的先验信息(历史经验)可对参数的后验密度进行估计,通过求解后验密度期望而得到相应参数的估计值^[4]。

(2) 先验分布

由于这些待估计的参数范围均在 0~1 之间,故可假设其先验分布为 beta(α, β) 分布,又由于 beta 分布不包括 0,而非流行区感染率可能为 0,故设 p_i 以一定概率 τ_i 服从 beta 分布,而 $p_i=0$ 的概率为 $1-\tau_i$ ^[3]。

beta(α, β) 分布中参数 α 和 β 的计算公式如下:

$$\alpha = \pi \left[\frac{(1 - \pi) \pi}{\sigma^2} - 1 \right] \quad (7)$$

$$\beta = (1 - \pi) \left[\frac{(1 - \pi) \pi}{\sigma^2} - 1 \right] \quad (8)$$

其中 π 为先验均数,对应于 95% 概率区间(95% probability intervals)的中间位置,σ 为先验标准差,对应于 95% 概率区间的四分之一大小^[5]。

(3) 模拟算法及软件

对参数的求解过程涉及高维积分,当参数个数较多时,求解过程十分困难,采用 Gibbs 抽样可以解决这一难题,该法为计算机模拟技术——马尔科夫链蒙特卡罗(Markov chain Monte Carlo, MCMC) 算法之一^[6]。对马尔科夫链收敛与否的判断采用 Gelman—Rubin 统计量^[7]与目测时序图相结合的方法。Bayes 估计过程在软件 WinBUGS1. 4. 1^[8]中完成。

结果与分析

1. 基本情况

在随机抽取的 35 个行政村中,有 13 个村属于血吸虫病流行区,22 个村属于非流行区,同时完成 ELISA 和 Kato—Katz 法检查的人数为 3 237 人,其中流行区 1 439 人,非流行区 1 798 人,检查结果见表 1。

2 先验分布

不管是流行区还是非流行区,数据均提供 3 个自由度,而待估计的参数至少有 5 个,故引入部分先验信息。为了使估计结果不至于受先验信息影响过大,所给出的先验信息尽量宽泛。根据文献信息^[2],ELISA 灵敏度和 Kato—Katz 特异度较高,而在现场应用时 ELISA 特异度和 Kato—Katz 灵敏度不确定,故前两者先验范围设为 0.5~1 之间,而后两者采用无先验信息分布 beta(1, 1)。非流行区的感染率为 0 或很低,设其小于 0.5 的概率为

0.5,而等于 0 的概率也为 0.5,设流行区的感染率以概率 1 服从 beta(1, 1) 分布,见表 2。

表 1 2005 年云南省洱源县日本血吸虫感染的 ELISA 和 Kato—Katz 检测结果

| ELISA | Kato—Katz | | | | | |
|-------|-----------|------|------|------|------|------|
| | 流行区 | | | 非流行区 | | |
| | 阳性 | 阴性 | 合计 | 阳性 | 阴性 | 合计 |
| 阳性 | 35 | 675 | 710 | 2 | 163 | 165 |
| 阴性 | 3 | 726 | 729 | 2 | 1631 | 1633 |
| 合计 | 38 | 1401 | 1439 | 4 | 1794 | 1798 |

表 2 Bayes 方法用于 ELISA 和 Kato—Katz 的评价中各参数的先验信息

| 参数 | 先验信息 | |
|---------------|-------------|------------------|
| | 范围 | 分布 |
| ELISA 灵敏度 | 0.50~1.00 * | beta(8.25, 2.75) |
| ELISA 特异度 | 0.00~1.00 | beta(1, 1) |
| Kato—Katz 灵敏度 | 0.00~1.00 | beta(1, 1) |
| Kato—Katz 特异度 | 0.50~1.00 * | beta(8.25, 2.75) |
| 流行区感染率 | 0.00~1.00 | beta(1, 1) |
| 非流行区感染率 | 0.00~0.50 * | beta(2.75, 8.25) |

* 95% 概率区间(95% probability intervals)

3. Bayes 估计结果

在 WinBUGS 中,以不同初始值平行模拟两条链,Gibbs 抽样迭代数千次后各参数的马尔科夫链能满足收敛要求,故丢弃前 10 000 次预迭代(burn in),用随后的 20 000 次迭代进行参数估计,结果用中位数(Median)和 95% 可信区间(95% credible intervals, 95% CI)表示。对流行区而言,ELISA 灵敏度较高,平均水平为 0.913(95%CI: 0.794~0.979),但特异度较差,平均水平为 0.584(95%CI: 0.506~0.957);而 Kato—Katz 灵敏度较低,平均水平为 0.148(95%CI: 0.044~0.896),特异度很高,平均水平为 0.994(95%CI: 0.985~0.999)。其余结果见表 3。

表 3 Bayes 方法用于 ELISA 和 Kato—Katz 的评价中各参数的估计结果

| 参数 | 流行区 | | 非流行区 | |
|---------------|--------|-------------|--------|-------------|
| | 中位数(M) | 95%CI | 中位数(M) | 95%CI |
| ELISA 灵敏度 | 0.913 | 0.794~0.979 | 0.766 | 0.468~0.945 |
| ELISA 特异度 | 0.584 | 0.506~0.957 | 0.908 | 0.894~0.924 |
| Kato—Katz 灵敏度 | 0.148 | 0.044~0.896 | 0.490 | 0.018~0.976 |
| Kato—Katz 特异度 | 0.994 | 0.985~0.999 | 0.997 | 0.993~0.999 |
| 感染率 | 0.156 | 0.023~0.527 | 0 | 0~0 |

讨 论

ELISA 和 Kato—Katz 法是血吸虫病流行病学调查中常用的两种检测方法,对 ELISA 检测效果进行评价时,通常选用确诊的病人和来自非流行区的正常人,再辅以与其他疾病的交叉试验,而在现场(特别是流行区)应用时,由于交叉反应、既往感染的影响,ELISA

的特异度可能会低些,而且具有一定的不确定性,所谓“确诊”的病原学方法也不是真正的金标准,有一定的漏检率,对那些没被确诊的感染者,ELISA 的检测效果如何,传统的方法难以给出正确的评价。由于缺乏真正的金标准,对 Kato—Katz 法检测效果的评价也具有局限,在现场应用时,由于感染度高低、操作人员的责任心和技术方面的问题,Kato—Katz 法的检测效果(特别是灵敏度)同样具有一定的不确定性。只有考虑到这些因素、并妥善解决相关问题,才能正确评价这两种方法。

Bayes 统计可以将检测方法的灵敏度、特异度和感染率看作未知参数,同时将这些参数的不确定性纳入估计过程中,目前已被成功应用于无金标准时一个或多个诊断试验的评价以及感染率/患病率估计^[9,10],国内顾海雁等^[11]也曾对此问题进行了探讨。当同时对两个或两个以上检测方法进行评价时,应该考虑到这些方法之间可能存在的相关性,对于检测不同生物学现象的方法(如本文中的 ELISA 检测 IgG 抗体,而 Kato—Katz 法检测虫卵),可以假设彼此独立^[12]。对先验分布的假设也是 Bayes 估计中一个重要的内容,灵敏度、特异度和感染率这些指标的先验分布通常设为 beta 分布,当没有先验信息时可采用 beta(1,1)分布,但 beta(1,1)分布并不包括 0,因此在建立 Bayes 模型时应该考虑感染率等于 0 的情况^[3]。

本文采用 Bayes 方法,利用现场资料,对 ELISA 和 Kato—Katz 法分别应用于流行区和非流行区的检测效果进行了评价,这对于感染率的正确估计具有重要的意义。ELISA 在流行区的灵敏度和在非流行区的特异度与以往实验室评价的结果^[13]类似,说明本估计方法可靠,但本研究同时还给出其变异范围(95%CI),比传统评价方法更为合理。

从 ELISA 特异度在流行区与非流行区的不同可以推断在流行区的特异度较低主要是由既往感染所致,说明以往采用非流行区正常人对血清学检查方法的特异度进行评价具有局限性,并不适用于流行区。Kato—Katz 法的低灵敏度及其范围过大的 95%CI 让我们有理由怀疑其在流行病学调查中的应用价值。由于不同地区与血吸虫抗体检测具有交叉反应的疾病流行状况可能不同,而且既往感染的情况也可能不同,故在其他地区采用 ELISA 方法时不能照搬本文的评价结果,但本文结果可以作为先验信息,也可以为其他血清学检查方法的评价和现场应用提供参考信息。

(本调查得到云南省大理州血吸虫病防治研究所和洱源县血防站的大力协助,特此感谢!)

Evaluation of Two Tests for Detecting Schistosoma Japonicum In-

fection Using a Bayesian Approach Wang Xianhong, Zhou Xianong, Li Yuanlin, et al. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention (200025), Shanghai

【Abstract】 Objective To explore a novel approach to estimate the sensitivities and specificities of two tests, i. e., ELISA and Kato—Katz, for detecting schistosoma japonicum infection when used in the field. **Methods** A Bayesian approach was employed to evaluate the characteristics of the two tests when used in endemic and non—endemic areas, respectively, based on the data from the field investigation in Eryuan county of Yunnan province, 2005. **Results** In endemic areas, a high sensitivity with the median of 0.913 and a low specificity with the median of 0.584 presented in ELISA, and a low sensitivity with the median of 0.148 along with a very high specificity(0.994) appeared in Kato—Katz. In non—endemic areas, a moderate sensitivity of 0.766 with a high specificity(0.908) was showed in ELISA, and the sensitivity and specificity of Kato—Katz was similar to that in endemic areas, respectively. **Conclusion** The Bayesian approach can evaluate the test properties appropriately when there is no gold standard.

【Key words】 Bayesian statistics; ELISA; Kato—Katz; Sensitivity; Specificity; Schistosoma japonicum

参 考 文 献

1. 周晓农,汪天平,王立英,等.中国血吸虫病流行现状分析.中华流行病学杂志,2004,25(7):555-558.
2. Doenhoff MJ, Chiodini PL, Hamilton JV. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection; can it be done with antibodies? Trends Parasitol, 2004, 20(1):35-39.
3. Branscum AJ, Gardner IA, Johnson WO. Bayesian modeling of animal and herd-level prevalences. Prev Vet Med, 2004, 66(1-4):101-112.
4. 茆诗松. 贝叶斯统计. 北京:中国统计出版社,1999,1-34.
5. Willian MB. Introduction to Bayesian statistics. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2004; 129-146.
6. Smith AFM, Roberts GO. Bayesian computation via the Gibbs sampler and related Markov chain Monte Carlo methods. J Roy Statist Soc B, 1993, 55:3-24.
7. Gelman A, Rubin DB. Inference from iterative simulations using multiple sequences. Statistical Science, 1992, 7:457-472.
8. Spiegelhalter D, Thomas A, Best N, et al. WinBUGS user manual version 1.4.1, 2004. Available at: <http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs>.
9. Branscum AJ, Gardner IA, Johnson WO. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. Prev Vet Med, 2005, 68(2-4):145-163.
10. 王显红,周晓农.贝叶斯统计在率估计与分析中的应用.中国卫生统计,2007,24(1):86-89.
11. 顾海雁,陈启光.无金标准情况下诊断试验的评价方法.中国卫生统计,1999,16(4):203-205.
12. Georgiadis MP, Johnson WO, Gardner IA, et al. Correlation-adjusted estimation of sensitivity and specificity of two diagnostic tests. Appl Stat, 2003, 52:63-76.
13. Zhu YC. Immunodiagnosis and its role in schistosomiasis control in China: A review. Acta Trop, 2005, 96(2-3):130-136.