

臺灣牛布氏桿菌病各種血清診斷法之比較

陳素貞 蘇杰夫 王金和

1979年第一期至1980第二期，由全省各縣市家畜疾病防治所送至省家畜衛生試驗所的牛血清中，選取824頭再以玫瑰苯平板凝集反應、試管凝集反應及補體結合反應，三種檢驗方法比較其結果，結果皆為陽性者有64頭，皆為陰性者有667頭，其餘93頭則有一種或二種反應陽性的。玫瑰苯平板凝集反應與補體結合反應比較時，其相對敏感性與相對特異性分別為98.6及93.2%；試管凝集反應與補體結合反應比較時，其相對敏感性及相對特異性分別為97.2%及93.2%。

世界各國對牛布氏桿菌病的撲滅計畫，都以血清檢驗法行之^{3, 4}。在臺灣對牛布氏桿菌病血清檢驗的制度，首先由各縣市家畜疾病防治所以急速平板凝集反應測定疑陽性牛血清，再送往省家畜衛生試驗所複檢，自1976年至1978年送往複檢的血清共有8219支經以試管凝集反應及補體結合反應複檢後，判為陽性的僅有185頭²，顯示急速平板凝集反應之準確性甚低，故1979年本所製劑系製造玫瑰苯平板凝集抗原，擬代替急速平板凝集抗原，供做篩檢之用⁵。這些診斷方法之準確與否，對牛布氏桿菌病之撲滅甚為重要，但其準確性並未做詳細比較。針對此重要的問題，我們由1979年至1980年由各縣市家畜疾病防治所送至省家畜衛生試驗所的部份牛血清，以玫瑰苯平板凝集反應，試管凝集反應及補體結合反應，三種檢驗方法作比較，並以統計分析，探討各血清診斷法的準確性。

材料與方法

一、材料

1.供試血清：1979年第一期至1980年第二期由全省各縣市家畜疾病防治所，初以平板凝集反應檢驗為疑陽性血清中，選取824隻供試。

2.玫瑰苯抗原：由本所製劑系製造²。

3.試管凝集抗原：購自日本農林省家畜衛生試驗場。

4.補體結合抗原：同上。溶血素：Difco 產品，使用前先調整為2單位。補體：採自天竺鼠，以100%溶血法調整為2單位。

二、方法

1.玫瑰苯平板凝集反應：依吳的方法檢驗³。

2.試管凝集反應：受檢血清以0.5%石炭酸食鹽水由5倍開始稀釋至160倍後，加入等量適當單位之凝集抗原，充分混合置於37°C, 20-24小時感作後判定，於最終血清稀釋40倍呈50%凝集以上者為陽性，20倍呈50%凝集度以下者為陰性，其間者為疑陽性。

民國70年3月2日受理

臺灣省家畜衛生試驗所

3.補體結合反應：依Kolmer法⁶修正後，如下實施：受檢血清以0.01%硫酸銨食鹽水，由5倍開始稀釋，置於56°C 30分鐘非活化，再加入0.1 c.c 2單位抗原與0.2 c.c 2單位補體，置於4°C, 16-18小時低溫感作，再加入0.2 c.c 感作綿羊血球溶血素，於37°C 經30分鐘後判定，若5倍血清稀釋呈50%阻止溶血反應者為陽性，溶血者為陰性。

4.生物統計：依補體結合反應的結果為基準，以Martin的方法⁷計算，其他二種檢驗方法之相對特異性及相對敏感性；依Mc Nemar氏考驗法⁸，分析玫瑰苯平板凝集反應行篩檢之效果。

結果

824頭牛血清玫瑰苯平板凝集反應，試管凝集反應及補體結合反應之結果，列於表一。

表一：各種血清檢驗法之結果

檢驗方法			頭數
RB	TA	CF	
+	+	+	64
+	+	-	6
+	±	+	4
+	±	-	8
+	-	+	2
+	-	-	37
-	+	+	0
-	+	-	2
-	±	±	1
-	±	-	33
-	-	+	0
-	-	-	667

RB：玫瑰苯平板凝集反應。TA：試管凝集反應

CF：補體結合反應。+：陽性。±：疑陽性。

-：陰性。

由表一可見三種檢驗方法皆為陽性的有64頭血清，皆為陰性的有667頭，其餘三種檢驗方法並不一致的有93頭。由表一整理可得玫瑰苯平板凝集反應與其他檢驗方法相符合的百分比，列於表二。同

理可以整理試管凝集反應與其他檢驗法之比較於表三。若以補體結合反應為基準，計算其他檢驗方法之相對特異性與相對敏感性，並以 Mc Nemar 氏法計算其卡方值，列於表四。

表二：玫瑰苯平板凝集反應與其他檢驗方法之比較

檢驗方法 結果	RB 陽性						RB 陰性					
	TA			CF			TA			CF		
	+	±	-	+	-	+	±	-	+	-	+	-
頭 數	70	12	39	70	51	2	34	667	1	702		
百 分 比	57.9	9.9	32.2	57.9	42.1	0.3	4.8	94.9	0.2	99.8		

RB: 玫瑰苯平板凝集反應。 TA: 試管凝集反應。 CF: 補體結合反應。

表三：試管凝集反應與其他檢驗方法之比較

檢驗方法 結果	TA 陽性				TA 疑陽性				TA 陰性			
	RB		CF		RB		CF		RB		CF	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
頭 數	70	2	64	8	12	34	5	41	39	667	2	702
百 分 比	97.2	2.8	88.9	11.1	26.1	73.9	10.9	89.1	5.5	94.9	0.2	99.8

RB: 玫瑰苯平板凝集反應。 TA: 試管凝集反應。 CF: 補體結合反應。

表四：以補體結合反應為基準比較其他檢驗方法之相對特異性、相對敏感性及卡方值

	Rse	Rsp	X ²
RB	98.6	93.2	48.1
TA ₁	90.1	98.9	0.07
TA ₂	97.2	93.5	43.3

Rse: 相對敏感性 Rsp: 相對特異性 X²: 依 Mc Nemar 氏法計算卡方值

TA₁: 僅計算陽性的 TA₂: 包括陽性及疑陽性。

討 論

牛布氏桿菌病陽性牛隻之分離率僅 76.1%⁽³⁾，病理變化之出現率更低⁽¹⁴⁾，感染牛往往無法分離到病原體，而又無病理變化者，故細菌分離與病理都無法表現真正的感染情形。根據許多報告，補體結合反應結果與真正感染牛頗為一致⁽⁶⁾，故以補體結合反應結果為基準評判其他檢驗方法。但補體結合反應的結果並非牛隻真正的感染⁽⁴⁾，故以其為基準而計算出來的，稱為相對特異性及相對敏感特性。

1976年至1978年由全省各縣市防治所以急速平板凝集反應初步判定為陽性血清，再送至本所複檢血清共有 8219 頭，經複檢後判為陽性者僅 185 頭 (2.25%)，而 1979 年至 1980 年經由玫瑰苯平板凝集反應判為陽性的 121 頭血清中，被判為陽性的達 70 頭 (57.8%)，在行篩檢時玫瑰苯平板凝集反應遠比急速平板凝集反應準確 ($P < 0.01$)。

玫瑰苯平板凝集反應為陰性而補體結合反應為陽性的僅有一隻，雖然以玫瑰苯平板凝集反應篩檢，可能會遺漏陽性病例，但根據報告，抗體陰性之感染牛隻，一段時間後，就可轉為陽性^(8,9)，連

續採數次血清，必可將陽性牛隻摘除，況根據統計學的理論，任何一種檢驗方法都有其不準度⁽⁷⁾，在此次的統計中，玫瑰苯平板凝集反應之相對特異性及相對敏感性皆甚高，而以 Mc Nemar 氏考驗得 $P < 0.01$ 。而 1976 至 1978 年由各省各縣市家畜疾病防治所以急速平板凝集反應，判為疑陽性血清，再送至省家畜衛生試驗所複檢後，被判為陽性者僅 2.26% (185/8219)。故可以取代急速平板凝集反應，以供臺灣牛布氏桿菌病行篩檢之用。

誌謝

本研究蒙農發會之加速農村建設計畫之補助，全省各家畜疾病防治所協助送材，特此致謝。

參考文獻

- 毛文秉。1979。非獨立樣本比例之卡方考驗：Mc Nemar 氏考驗。177-179。生物統計學第一版。環球。臺北。
- 吳義興。1979。玫瑰苯抗原應用於本省牛布氏桿菌病之診斷。動物醫學。3:22-23。
- 陳守仕、蘇杰夫、陳素貞、鄭建盛、蔡義雄、張瑞森、吳福明、劉正義。1979。臺灣牛布氏病之研究：血清學調查、病原分離和鑑定及對空天鼠之病原性。中華民國獸醫學會雜誌。5:71-77。
- 傅祖慧、蔡文敏。1963。牛布氏桿菌病之診斷試驗。臺灣省畜牧獸醫工作報告。5:5-20。
- 伊佐山康郎。1971。日本牛病血清診斷。農林省家畜衛生試驗場報告。62:64-82。
- Chappel, R. J., D. J. McNaught, J. K. Bourke and G. S. Allan. 1978. Comparison of the results of some serological tests for bovine brucellosis. J. Hyg. Camb. 80:365-371.
- Martin, S. W. 1977. The evaluation of tests. Can. J. Comp. Med. 41:19-25.
- Morgan, W. J. Brinley. 1967. The serological diagnosis of bovine brucellosis. Vet. Rec. 80:612-620.
- Morgan, W. J. Brinley, D. J. Mackinnon, J. R. Lawson, G. A. Cullen. 1969. The rose bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. Vet. Rec. 85:636-641.
- Mylrea, B. J. 1972. The diagnosis of brucellosis in dairy herds. Aust. Vet. J. 48: 369-375.
- Nicoletti, Paul, T. F. Muraschi. 1966. Bacteriologic test procedures for the diagnosis of brucellosis in problem cattle herds. Am. J. Vet. Res. 27:689-694.
- Nicoletti, Paul. 1969. Further evaluation of serologic test procedures used to diagnose brucellosis. Am. J. Vet. Res. 30:1811-1816.
- Waghela, S., J. G. Wandera, G. G. Wagner. 1980. Comparison of four serological tests in the diagnosis of caprine brucellosis. Res. Vet. Sci. 28:168-161.
- Wang, C. H. and F. M. Wu. unpublished data. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health

COMPARISON OF DIFFERENT SEROLOGICAL TESTS IN THE DIAGNOSIS OF BOVINE BRUCELLOSIS IN TAIWAN

S. C. Chen, J. F. Su and C. H. Wang

Results of brucellosis Rose Bengal plate test, tube agglutination test and complement-fixation test on 824 bovine sera which collected from the whole island in 1979 to 1980 were compared. Sixty four cattle were positive and 667 negative to all three tests. The remainder 93 sera reacted to one or two tests. The relative sensitivity and the relative specificity of Rose Bengal plate test were 98.6% and 93.2% respectively when compared with complement-fixation test. The relative sensitivity and the relative specificity of tube agglutination test were 97.2% and 93.5% respectively when compared with complement-fixation test.