

運用分析敏感性評估口蹄疫與藍舌病抗體檢測

報告人：李璠 副研究員（豬瘟研究組）

壹、緒言

尋常在流行病學上所稱的敏感性與特異性，嚴格來說，應分別稱為「診斷敏感性(diagnostic sensitivity)」與「診斷特異性(diagnostic specificity)」。診斷敏感性及診斷特異性適用於計算某一分析方法正確區辨健康或罹病動物的機率高低。所謂「分析敏感性(analytical sensitivity)」，係指某一方法能自檢體中正確檢驗某種特定物質的最低量，亦被稱為「檢測極限(limit of detection)」。分析敏感性亦為評估血清學檢測技術的重要參數之一，然而在應用上卻較診斷敏感性和診斷特異性少。對於口蹄疫這種重要動物傳染病而言，我國在血清學監測上使用酵素連結免疫吸附分析法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)檢測非結構蛋白抗體(antibodies against non-structural proteins)已行之有年，目前有三種套組被普遍應用在全國性監測。然而，三種套組的診斷敏感性與診斷特異性各有擅長，在擬定監測計畫時選擇何種套組對於實驗室人員與政策決定者均是一大考驗。特別是在缺乏足夠標準血清的限制下，評估檢測套組時更需要用其他方法的協助。另一方面，檢測套組評估的問題也出現在藍舌病血清學監測的工作。從 2003 年的藍舌病抗體監測數據看起來，一種 ELISA 套組的陽性檢出率明顯比另一種高得多，其原因究竟是因為檢測能力較佳亦或是診斷特異性較差，需要進一步釐清。本次報告即藉學術研討會的機會，分享過去幾年利用分析敏感性協助評估口蹄疫及藍舌病抗體檢測套組的實務經驗。

貳、材料與方法

參與口蹄疫非結構蛋白抗體檢測方法之分析敏感性評估(Lee et al., 2004)試驗的套組共有三種：CHEKIT FMD-3ABC (簡稱 ELISA A)、UBI FMDV NS EIA (簡稱 ELISA B)、DVIVR NSP ELISA (簡稱 ELISA C)。將 10 個採自口蹄疫人工感染豬隻的口蹄疫陽性血清以正常豬隻血清進行 2 倍稀釋以作為檢測樣本，稀釋倍數自 1 倍至 256 倍。三種套組的操作步驟依據各套組所附之說明書進行，分別檢測各稀釋濃度的口蹄疫陽性血清。

參與藍舌病抗體檢測套組之分析敏感性評估試驗的競爭性酵素連結免疫吸附分析套組共有二種：Bluetongue Virus Antibody Test Kit, cELISA (Veterinary Medical Research and Development, Inc, USA；簡稱 ELISA D)以及 Bluetongue ELISA Kit (Biological Diagnostic Supplies Ltd, UK；簡稱 ELISA L)。另有一種免疫擴散法套組 Bluetongue Virus Antibody Test Kit (Veterinary Medical Research and Development, Inc, USA；簡稱 AGID)也參與評估。將 10 個藍舌病抗體陽性的荷蘭牛血清以及 10 個採自藍舌病人工感染綿羊的藍舌病陽性血清分別以正常牛隻血清及綿羊血清進行 2 倍稀釋以作為檢測樣本，稀釋倍數自 1 倍至 256 倍。三種套組的操作步驟依據各套組所附之說明書進行，分別檢測

各稀釋濃度的藍舌病陽性血清。

參、結果與討論

口蹄疫非結構性蛋白抗體檢測方法之分析敏感性評估的檢測結果如表一。ELISA A 的分析敏感性明顯較 ELISA B 及 ELISA C 為低。這個結果與 Lee et al. (2004)對三種套組在陽性檢出率的比較結果一致，顯示 ELISA A 的陽性檢出率較低的確與其分析敏感性較低有關。誠然，某些評估的結果顯示 ELISA A 的診斷特異性很優異。然而在研擬監測計畫時，若選擇診斷特異性較高的 ELISA A，必須將其分析敏感性低的弱點一併列入考慮，才不會讓過多陽性檢體因偽陰性的結果而誤判，致使監測過程難以篩檢出感染動物。在藍舌病抗體檢測的相對分析敏感性方面，兩種競爭性酵素連結免疫吸附分析套組的分析敏感性無論檢測牛或綿羊的藍舌病陽性血清，一如預期地均較免疫擴散法優異(表二)。兩種競爭性酵素連結免疫吸附分析套組之間，最高稀釋倍數的幾何平均值則以 ELISA L 較佳，顯示 ELISA L 的分析敏感性較佳，可以檢測到血清中較低含量的抗體。這個結果呼應了 2003 年的監測數據，ELISA L 陽性檢出率較高的原因，至少有一部份是因為其分析敏感性較高的緣故。分析敏感性的觀念對臨床檢測方法的評估相當實用，尤其在大多數動物傳染病的檢測方法均欠缺足夠數量標準血清的情形下，可用來比較多種檢測方法之間的檢測能力。相較於診斷敏感性與診斷特異性，分析敏感性能從不同的角度檢視使用中的檢測方法，也可以對已有的診斷敏感性與診斷特異性數據提供進一步的解析。

表一、三種口蹄疫非結構蛋白抗體檢測套組檢測口蹄疫陽性豬隻血清之分析敏感性比較。

| 豬隻血清編號 | ELISA A | ELISA B | ELISA C |
|--------|---------|---------|---------|
| 53 | 1:1 | 1:8 | 1:32 |
| 56 | 1:1 | 1:32 | 1:64 |
| 57 | 1:4 | 1:8 | 1:64 |
| 85 | 1:1 | 1:4 | 1:4 |
| 96 | 1:1 | 1:8 | 1:16 |
| 468 | 1:1 | 1:8 | 1:8 |
| 4622 | 1:1 | 1:32 | 1:32 |
| 4636 | 1:1 | 1:8 | 1:8 |
| 265 | 1:1 | 1:8 | 1:16 |
| 266 | 1:8 | 1:16 | 1:64 |
| 幾何平均值 | 1:1.4 | 1:10.6 | 1:21.1 |

表二、二種藍舌病競爭性酵素連結免疫吸附分析套組檢測藍舌病陽性乳牛及綿羊血清之分析敏感性比較。

A.

| 乳牛血清編號 | ELISA D | ELISA L | AGID |
|--------|---------|---------|-------|
| 1 | 1:2 | 1:8 | 1:1 |
| 2 | 1:8 | 1:64 | 1:2 |
| 3 | 1:2 | 1:16 | 1:2 |
| 4 | 1:2 | 1:8 | 1:2 |
| 5 | 1:2 | 1:8 | 1:1 |
| 6 | 1:4 | 1:32 | 1:2 |
| 7 | 1:4 | 1:16 | 1:2 |
| 8 | 1:4 | 1:32 | 1:2 |
| 9 | 1:16 | 1:128 | 1:4 |
| 10 | 1:2 | 1:16 | 1:2 |
| 幾何平均值 | 1:3.2 | 1:21.1 | 1:1.9 |

B.

| 綿羊血清編號 | ELISA D | ELISA L | AGID |
|--------|---------|---------|-------|
| 53 | 1:4 | 1:128 | 1:4 |
| 113 | 1:16 | 1:256 | 1:2 |
| 75 | 1:8 | 1:256 | 1:2 |
| 109 | 1:4 | 1:32 | 1:2 |
| 133 | 1:16 | 1:256 | 1:4 |
| 219 | 1:32 | 1:128 | 1:16 |
| 222 | 1:8 | 1:256 | 1:4 |
| 264 | 1:8 | 1:128 | 1:8 |
| 273 | 1:16 | 1:128 | 1:4 |
| 279 | 1:8 | 1:128 | 1:4 |
| 幾何平均值 | 1:9.8 | 1:147.0 | 1:4.0 |