

AHPND 池邊即時快檢試劑之開發(IV)

朱惠真¹、陳力豪¹、許晉榮¹、張錦宜²
¹水產養殖組、²水產試驗所

亞太地區為水產養殖的主要產區，同時也是全球最大的水產品消費市場，但該區域多年來一直受到各種新興水生動物疾病的侵襲，如蝦類急性肝胰腺壞死病 (acute hepatopancreas necrosis disease, AHPND) 及腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 感染造成的下痢等。

腸炎弧菌為一格蘭氏陰性嗜鹽菌，除魚蝦貝類可能帶原外，環境中亦常見於海水、入海口或是海水養殖區，此外亦有關於傷口與海水接觸後，遭腸炎弧菌感染，引發敗血症及組織感染之報告。因此本研究旨在開發適用於 AHPND 及下痢病原菌且可於常溫下反應之快速檢測套組，期能於養殖現場進行快速篩檢，以作為現場環境管理維護之依據。

本研究開發之快速檢測套組係將側流試紙 (LFA) 與膠體金及抗體結合，具有縮短檢測時間並保有偵測靈敏度且無需搭配精密儀器之優點。以 AHPND 致病株之 ToxA 蛋白質序列及下痢致病株之 TLH 蛋白質序列作為抗原，預測其最佳抗原決定位 (epitope) 後合成該短肽，注射於兔子生產多株抗體。以不同菌液濃度進行靈敏度測試，結果顯示 ToxA 偵測極限可達 10^4 CFU/ml，TLH 則是 10^6 CFU/ml (圖 1)。針對 72 株常見水產細菌檢測結果，顯示 ToxA 及 TLH 均有極高的專一性。田間試驗方面，以多重競爭型膠體金試片測試結果顯示，在 50 個養殖池水樣本中有 1 組 ToxA 試紙出現陽性反應，其餘為陰性；分離菌株方面，有 7 組 TLH 試紙出現陽性反應，其餘為陰性 (圖 2)，結果和即時定量聚合酶鏈鎖反應一致，足見其在市場上應用之可行性。

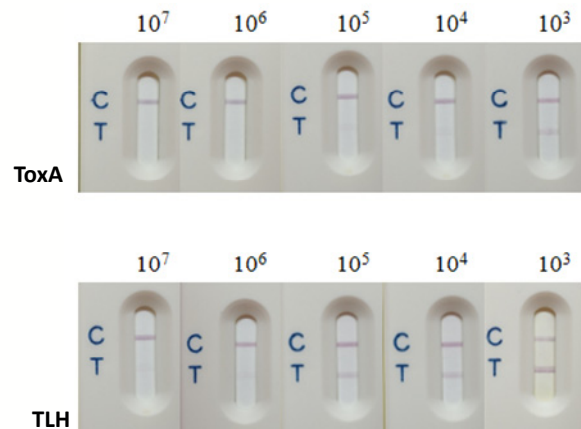


圖 1 快篩試紙之靈敏度測試

以實驗室的標準菌株[上為腸炎弧菌 AHPND 型 (ToxA)，下為腸炎弧菌下痢型 (TLH)] 進行不同菌液濃度之靈敏度測試，結果顯示 ToxA 組之快篩試紙靈敏度為 10^4 CFU/ml，TLH 組為 10^6 CFU/ml



圖 2 多重競爭型膠體金試片田間試驗

50 個養殖池水分別經過濃縮後，以試片套組所附之藥劑萃取，再以滴管吸取混合之樣品，滴入膠體金試片之測試區，10 分鐘後判讀結果。結果顯示，第 6 號樣品在 ToxA 呈陽性反應，第 30、35、42、45、47、49、50 號樣品在 TLH 呈陽性反應，與利用即時聚合酶鏈鎖反應之結果一致