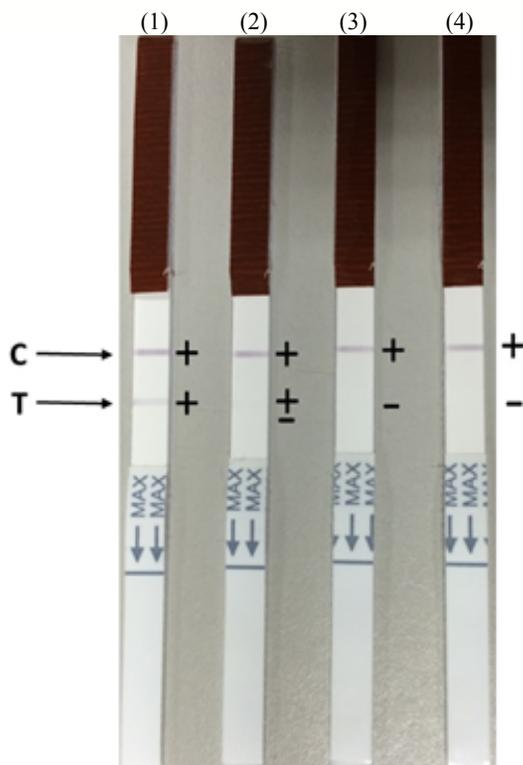


鰻魚潰瘍症池邊即時快檢試劑之開發(II)

朱惠真、張錦宜
水產養殖組

愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 為愛德華氏症 (Edwardsiellosis) 之病原，此疾病造成全球養殖產業的重大經濟損失，尤其對養殖鰻魚危害極深。使用快速、簡易之檢測試劑將有助於疾病的診斷及監控。本研究旨在開發愛德華氏菌之快速檢測試劑，以提供養殖現場進行疾病檢測 (如圖)。將愛德華氏菌的抗原萃取出來後，打入老鼠體內，取出老鼠的脾臟細胞，並與骨髓瘤細胞做細胞融合。



免疫試紙對抗體靈敏度測試(Lane1 至 Lane3 分別為 10、1 及 0.1 μg 的抗原與試紙上的抗體結合而形成呈色反應，其靈敏度為 0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

以 HAT (hypoxanthine-aminopterin-thymidine medium) 培養數日，再利用酵素連結免疫吸附法 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay,

ELISA) 的檢測方式驗證抗體和抗原之間的結合度。將挑出的融合瘤細胞單株化後，再次以 ELISA 方式檢驗其專一性，最後將單株細胞打入小鼠的腹腔中，使其產生腹水，抽取其腹水並純化單株抗體。

本研究所設計的膠體金免疫試片 (Immunochromatographic gold-based test) 分成 2 種，一種以多株抗體做為二抗，另一種以單株抗體做為二抗。測試結果顯示，一次抗體的濃度範圍為 0.25–1.0 mg/ml，二次抗體的濃度範圍為 0.5–0.8 mg/ml，膠體金片 (gold-pad) 的體積為 3–5 μl 。另外也利用免疫試片至養殖場進行田間試驗，在 70 個水體樣本及 70 個組織樣本中，總共回收 62 個樣本，其中陽性反應者共有 6 家養殖場，包含 3 個水體樣本及 3 個組織樣本，陰性反應者共 56 家養殖場，均與傳統微生物方法檢測結果相符 (如表)。唯本年度養殖場鰻魚愛德華氏症的病例並不多，也因此影響到本田間試驗的檢出率。

鰻魚愛德華氏症快檢套組田間試驗結果)

雲林縣家畜疾病防治所(水體樣本)	疾病狀況		雲林縣家畜疾病防治所(組織樣本)	疾病狀況	
	有	無		有	無
檢出結果	陽性	2	0	陽性	0
	陰性	13	2	陰性	18
高雄市動物保護處(水體樣本)	疾病狀況		高雄市動物保護處(組織樣本)	疾病狀況	
	有	無		有	無
檢查結果	陽性	1	0	陽性	0
	陰性	6	0	陰性	7
屏東縣家畜疾病防治所(水體樣本)	疾病狀況		屏東縣家畜疾病防治所(組織樣本)	疾病狀況	
	有	無		有	無
檢查結果	陽性	0	0	陽性	2
	陰性	3	0	陰性	1
台東縣動物防疫所(水體樣本)	疾病狀況		台東縣動物防疫所(組織樣本)	疾病狀況	
	有	無		有	無
檢查結果	陽性	0	0	陽性	1
	陰性	1	1	陰性	0