

## 腸炎弧菌池邊即時快檢試劑之開發

朱惠真、陳力豪、許晉榮、張錦宜  
水產養殖組

腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 屬於嗜鹽性的格蘭氏陰性菌，常存在於海洋環境或是河口處，目前被認為是一種食源性疾病的致病性菌，通常人們會因為食用沒有煮熟的海洋食材而造成感染。由於目前全球氣候變遷以及海洋溫度的急遽上昇都會造成腸炎弧菌的滋生速度加快，研究上知其會造成腸胃型的感染如下痢以及蝦類肝胰腺壞死綜合症 (acute hepatopancreatic necrosis, AHPND)。目前偵測腸炎弧菌的方法有 RT-qPCR 及 RT-LAMP，雖然 RT-qPCR 有偵測精準且僅需要少量檢體的優勢，但所費不貲，RT-LAMP 方便簡單但是過程較為耗時。

本研究之目標是開發可在養殖現場使用的腸炎弧菌快速檢測試劑。萃取腸炎弧菌的抗原，將其打入兔子體內產生多株抗體，再利用酵素連結免疫吸附法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 驗證抗體和抗原之間的結合度。以免血清純化出來的 2 株多株抗體，抗體平均力價可達 2.85 及 2.65。以此 2 株多株抗體建立膠體金免疫試片 (Immuno-chromatographic Gold-based Test)，並命名為 Vp6strip 及 Vp373strip。在測試膠體金免疫試片的專一性測試方面，以 Vp6strip 及 Vp373strip 針對 47 株水產常見細菌進行檢驗，結果發現，Vp6strip 可與造成 AHPND 的腸炎弧菌呈正反應結果 (圖 1)。而靈敏度測試方面，Vp6strip 原先測得的最低抗原濃度為 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，經改良後可達為  $10^5 \text{ cfu}/\text{ml}$  (圖 2)。綜合研究結果顯示，Vp6strip 對於 AHPND 的檢測有較高的可利用性，也可做為多功能性免疫試片組裝之原件。

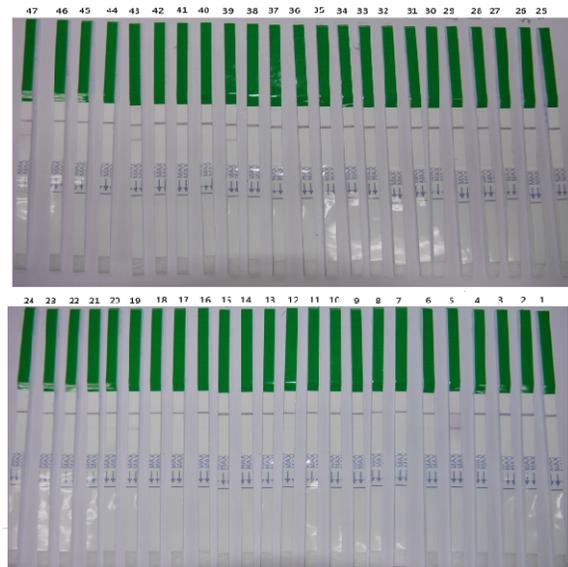


圖 1 Vp6strip 之專一性測試  
(正反應樣本為序號 5、19、20、39、43、47，除了樣本 19 及 20 為金黃葡萄球菌之外，其餘 4 株正反應細菌皆為可能導致 AHPND 之腸炎弧菌)

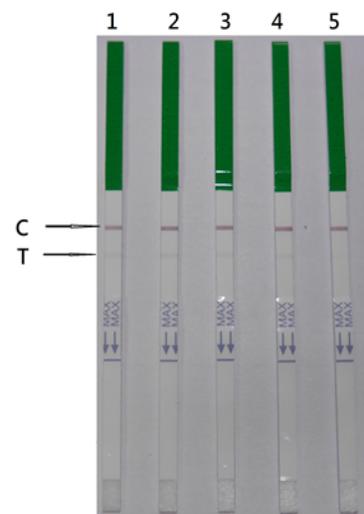


圖 2 提高腸炎弧菌菌液之免疫試片靈敏度測試  
(1：濃縮水體菌液  $10^5$ - $10^8 \text{ cfu}/\text{ml}$ ；2：腸炎弧菌濃度  $10^8 \text{ cfu}/\text{ml}$ ；3：腸炎弧菌濃度  $10^7 \text{ cfu}/\text{ml}$ ；4：腸炎弧菌濃度  $10^6 \text{ cfu}/\text{ml}$ ；5：腸炎弧菌濃度  $10^5 \text{ cfu}/\text{ml}$ 。其中 C 為控制線 T 為測試線)