

دستیابی به دانش فنی و ساخت کیت تشخیص سریع بیماری نکروز عصبی ویروسی

(Viral Nervous Necrosis) ماهیان با استفاده از روش ایمنوکروماتوگرافی

سید محمد جلیل ذریه زهرا^{۱*}، فاطمه حسن تبار^۲، فرید فیروزبخش^۳ و کیم تامپسون^۴

۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲، ۳- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۴- موسسه تحقیقات Moredun، اسکاتلند

نویسنده مسئول: zorrieh@yahoo.com

چکیده

تشخیص سریع بیماری و حذف سریع ماهیان آلوده در مراحل اولیه بیماری امری ضروری برای کنترل موثر شیوع بیماری در محیط های محصور دریائی و نیز مزارع آبیزی پروری است. هدف اساسی در این تحقیق طراحی و تهیه یک روش سنجش به منظور تشخیص سریع و آسان نمونه های آلوده به ویروس (VNN) بود. در روش ایمنوکروماتوگرافی پادتن نشاندار شده با ذرات کلوئیدی طلا بر سایر نشانگرها ارجحیت دارد. ذرات طلا ۳۰ نانومتری با غلظت های مناسبی از پادتن و در pH مشخصی پوشانیده شده و با آلومین سرم گاوی پایدار گردیدند. سپس طراحی کیت ایمنوکروماتوگرافی برای تشخیص بتانوداویروس انجام شد. به این منظور حجم های مختلف کونزوگه طلا-پادتن بر روی پد کونزوگه ریخته و سپس مقادیر مختلف پلی کلونال آنتی بادی در خط تست قرار گرفت. همچنین به منظور تایید و اطمینان از عملکرد کونزوگه طلا-پادتن، خط کنترل حاوی پادتن

ثانویه بر علیه پادتن موشی در منطقه مورد نظر قرار گرفت. در نهایت اجزای کیت تکمیل و نمونه مغز کفال ماهیان مشکوک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این کیت قادر به شناسایی 10^3 بتانودایروس می باشد. در مرحله نهایی ۵۰ نمونه سوپرناتانت مغز ماهی کفال طلائی که با استفاده از روش Real-time PCR و ایمونوهیستوشیمی، دارای تایید آلودگی با استفاده از کیت مزبور مورد ارزیابی قرار گرفتند. بطور کلی حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب ۶۴ و ۱۰۰ درصد بود. صحت روش ایمونوکروماتوگرافی تقریبا با روش Real-time PCR و ایمونوهیستوشیمی همخوانی دارد و در تست های غربالگری اپیدمیولوژیک می تواند بسیار مفید باشد.

کلمات کلیدی: کیت تشخیص سریع، نانوذره طلا، ایمونوهیستوشیمی، بیماری نکروز عصبی ویروسی