บทคัดย่อ

209299

ซิตรัสทริสเตซาไวรัส (CTV) เชื้อสาเหตุโรคทริสเตซาซึ่งเป็นโรคที่ร้ายแรงของพืชตระกูลส้ม การตรวจพบเชื้อไวรัสในระยะแรกของการเกิดโรค ทำให้สามารถควบคุมโรคไม่ให้แพร่ระบาดเพิ่มมากขึ้น การพัฒนาการตรวจโรคทริสเตซาโดยระบบอิมมูโนโครมาโตกราฟิคลาเทอรัลโฟล์ (ICLF) ช่วยให้การตรวจโรคทริสเตซาทำได้ง่ายขึ้นและทราบผลในเวลาอันรวดเร็ว ในการพัฒนาแผ่นตรวจเชื้อทริสเตซาไวรัสโดยระบบ ICLF ครั้งนี้ใช้อนุภาคทองเป็นตัวบ่งชี้ (dye marker) ขนาด 30 นาโนเมตร เชื่อมกับแอนติบอดีของเชื้อไวรัสเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของอนุภาคทอง ขีดเส้นตรวจ (test line, T) ด้วยแอนติบอดีของเชื้อไวรัส (CTV-IgG) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และขีดเส้นควบคุม (control line, C) ด้วยแอนติบอดีของเซรัมกระต่ายปกติเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บนแผ่นเซลลูโลสเมมเบรนที่มีอัตราความเร็วจำเพาะของการเคลื่อนที่ของของเหลว 110-165 วินาทีต่อ 4 เซนติเมตร ผลิตแผ่นตรวจ (test strip) ให้ผลตรวจดีที่สุด เนื่องจากเมื่อนำไปใช้ตรวจเชื้อทริสเตซาไวรัสในน้ำคั้นจากมะนาวติดเชื้อไอโซเลท SM4 เจือจาง 1:10 ปรากฏสีแดงบนเส้นตรวจและเส้นควบคุมซึ่งหมายถึงตรวจพบไวรัสซึ่งสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าภายในเวลาเฉลี่ย 3 นาที 39 วินาที (219 วินาที) และ 54.2 วินาที ตามลำดับ แต่เมื่อใช้อนุภาคทองขนาด 15 นาโนเมตรโดยมีเงื่อนไขอื่นเช่นเดิมเตรียมแผ่นตรวจ พบว่าสีบนเส้นตรวจและเส้นควบคุมจางลง และผลการวัดระดับความเข้มของสีแดงบนเส้นตรวจที่ใช้ทองขนาด 30 นาโนเมตร วัดได้ 0.488 ซึ่งสูงกว่าสีแดงที่เกิดจากการใช้ทองขนาด 15 นาโนเมตร วัดได้ 0.388 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แผ่นตรวจซึ่งเตรียมโดยใช้แอนติบอดีของทริสเตซาไวรัสที่ผ่านการขจัดการปนเปื้อนของแอนติบอดีต่อโปรตีนพืช เมื่อใช้ตรวจน้ำคั้นของมะนาวปกติไม่เกิดสีบนเส้นตรวจหรือให้ผลลบ

Abstract

209299

Citrus tristeza virus (CTV) is a causal pathogen of the most destructive diseases of citrus. Early detection of CTV is essential for prevention of disease epidemic. CTV detection using Immuno Chromatographic Lateral Flow (ICLF) system has been developed for rapid and simple diagnosis of tristeza disease. In this experiment, a test strip using 30 nm colloidal gold (CG) conjugated with 10 μg/ml of CG as dye marker and 1 mg/ml of CTV-IgG for test line (T) and 0.5 mg/ml of goat antirabbit IgG for control line (C) sprayed on cellulose membrane with capillary speed specific 110-165 sec/4 cm gave the best result. When the test strips were assayed for the virus in sap extract diluted 1:10 from the CTV (SM4 isolate) infected acid lime, red color as assessed by naked eyes appeared on both T and C within 3 min 39 sec (219 sec) and 54.2 sec, respectively. However, when 15 nm of CG was used with the same conditions to prepare the test strip resulted in the color on T and C were faded. Results confirmed that CG-30 nm produced color intensity (0.488) on the test line which was statistical significantly higher than the intensity obtained from CG-15 nm (0.388). Moreover, it was found that test strips using CTV-IgG previously cross absorbed with plant protein to eliminate the contamination of plant protein antibodies gave negative result with sap from a healthy acid lime.