**赠予证明**

兹证明，本实验室于2019年09月01日将101份非洲猪瘟病毒抗体阳性血清，赠予禾旭（郑州）生物技术有限公司法人鲁龙先生，用于研发非洲猪瘟相关诊断试剂。以上阳性血清经英吉纳非洲猪瘟病毒（ASFV）阻断ELISA抗体检测试剂盒和间接免疫荧光方法检测均为非洲猪瘟病毒抗体阳性，经OIE推荐的非洲猪瘟病毒荧光PCR方法检测均为非洲猪瘟病毒阴性，鉴定报告见附件。

特此证明

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

2020年09月10日

附件

**血清鉴定报告**

**摘要：**由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所采集的101份血清样品经英吉纳非洲猪瘟病毒（ASFV）阻断ELISA抗体检测试剂盒及间接免疫荧光试验检测均为非洲猪瘟病毒抗体阳性，经OIE推荐的非洲猪瘟病毒荧光PCR方法检测均为非洲猪瘟病毒阴性，以上样品经过70℃灭活60分钟后，置-20℃以下保存。

**1 材料**

1.1 样品 101份临床样品，由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所中心收集、鉴定。

1.2 试剂 非洲猪瘟病毒（ASFV）阻断ELISA抗体检测试剂盒，由西班牙INGENASA公司生产；OIE推荐的非洲猪瘟病毒荧光PCR检测试剂，由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所制备。

1.3 仪器 荧光PCR仪，移液器，酶标仪，恒温培养箱。

**2 方法**

2.1 非洲猪瘟病毒抗体的检验 采用INGENASA公司生产的非洲猪瘟病毒（ASFV）阻断ELISA抗体检测试剂盒及间接免疫荧光试验对采集的101份血清样品进行检测。

2.2 非洲猪瘟病毒核酸的检验 采用OIE推荐的非洲猪瘟病毒荧光PCR检测方法对采集的101份血清样品进行检测。

2.3 样品的灭活 将101份血清样品经过70℃灭活60分钟后，置-20℃以下保存。

2.4 间接免疫荧光操作方法

补充该方法步骤

**3 结果**

3.1 样品的检验结果 采用非洲猪瘟病毒（ASFV）阻断ELISA抗体检测试剂盒、间接免疫荧光试验及OIE荧光PCR方法对101份临床样品的检测结果如表1所示。

表1 血清样品的检验结果

| 编号 | INGENASA | | | IFA  结果 | OIE-PCR | 数量 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| OD值 | X% | 判定 |
| ASFV01 | 0.545 | 63.92 | 弱阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV02 | 0.540 | 64.30 | 弱阳性 | + | - | 10ml |
| ASFV03 | 0.542 | 64.17 | 弱阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV04 | 0.664 | 54.46 | 弱阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV05 | 0.628 | 57.33 | 弱阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV06 | 0.673 | 53.72 | 弱阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV07 | 0.651 | 55.48 | 弱阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV08 | 0.653 | 55.34 | 弱阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV09 | 0.545 | 63.89 | 弱阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV10 | 0.630 | 57.13 | 弱阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV11 | 0.635 | 56.77 | 弱阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV12 | 0.672 | 53.78 | 弱阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV13 | 0.618 | 58.09 | 弱阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV14 | 0.653 | 55.30 | 弱阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV15 | 0.719 | 50.02 | 弱阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV16 | 0.653 | 55.34 | 弱阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV17 | 0.672 | 53.78 | 弱阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV18 | 0.698 | 51.69 | 弱阳性 | + | - | 11ml |
| ASFV19 | 0.577 | 61.39 | 弱阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV20 | 0.573 | 61.67 | 弱阳性 | + | - | 10ml |
| ASFV21 | 0.339 | 80.32 | 阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV22 | 0.311 | 82.59 | 阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV23 | 0.369 | 77.93 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV24 | 0.380 | 77.09 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV25 | 0.362 | 78.45 | 阳性 | + | - | 15ml |
| ASFV26 | 0.454 | 71.19 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV27 | 0.337 | 80.46 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV28 | 0.402 | 75.30 | 阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV29 | 0.450 | 71.47 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV30 | 0.315 | 82.23 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV31 | 0.310 | 82.66 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV32 | 0.365 | 78.26 | 阳性 | + | - | 10ml |
| ASFV33 | 0.355 | 79.03 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV34 | 0.336 | 80.56 | 阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV35 | 0.472 | 69.75 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV36 | 0.294 | 83.90 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV37 | 0.325 | 81.42 | 阳性 | + | - | 12ml |
| ASFV38 | 0.321 | 81.78 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV39 | 0.407 | 74.92 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV40 | 0.323 | 81.56 | 阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV41 | 0.311 | 82.57 | 阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV42 | 0.456 | 70.96 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV43 | 0.427 | 73.31 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV44 | 0.410 | 74.65 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV45 | 0.297 | 83.68 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV46 | 0.287 | 84.46 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV47 | 0.291 | 84.13 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV48 | 0.294 | 83.90 | 阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV49 | 0.318 | 81.99 | 阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV50 | 0.406 | 75.01 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV51 | 0.306 | 82.95 | 阳性 | + | - | 12ml |
| ASFV52 | 0.309 | 82.71 | 阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV53 | 0.401 | 75.39 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV54 | 0.439 | 72.33 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV55 | 0.504 | 67.17 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV56 | 0.441 | 72.19 | 阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV57 | 0.493 | 68.07 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV58 | 0.398 | 75.63 | 阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV59 | 0.378 | 77.21 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV60 | 0.495 | 67.89 | 阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV61 | 0.382 | 76.92 | 阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV62 | 0.432 | 72.91 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV63 | 0.444 | 71.95 | 阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV64 | 0.513 | 66.45 | 阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV65 | 0.416 | 74.20 | 阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV66 | 0.533 | 64.88 | 阳性 | + | - | 10ml |
| ASFV67 | 0.412 | 74.49 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV68 | 0.418 | 74.06 | 阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV69 | 0.488 | 68.46 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV70 | 0.461 | 70.61 | 阳性 | + | - | 11ml |
| ASFV71 | 0.527 | 65.31 | 阳性 | + | - | 12ml |
| ASFV72 | 0.434 | 72.76 | 阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV73 | 0.518 | 66.02 | 阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV74 | 0.369 | 77.93 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV75 | 0.472 | 69.75 | 阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV76 | 0.428 | 73.20 | 阳性 | + | - | 15ml |
| ASFV77 | 0.468 | 70.04 | 阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV78 | 0.455 | 71.09 | 阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV79 | 0.482 | 68.89 | 阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV80 | 0.441 | 72.19 | 阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV81 | 0.249 | 87.53 | 强阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV82 | 0.235 | 88.65 | 强阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV83 | 0.233 | 88.80 | 强阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV84 | 0.218 | 90.00 | 强阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV85 | 0.242 | 88.09 | 强阳性 | + | - | 7ml |
| ASFV86 | 0.201 | 91.31 | 强阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV87 | 0.179 | 93.11 | 强阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV88 | 0.264 | 86.29 | 强阳性 | + | - | 2ml |
| ASFV89 | 0.252 | 87.25 | 强阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV90 | 0.174 | 93.47 | 强阳性 | + | - | 3ml |
| ASFV91 | 0.264 | 86.29 | 强阳性 | + | - | 4ml |
| ASFV92 | 0.172 | 93.63 | 强阳性 | + | - | 12ml |
| NC均值 | 1.347 | / | / | / | / | / |
| PC均值 | 0.092 | / | / | / | / | / |
| ASFV93 | 0.242 | 88.59 | 强阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV94 | 0.195 | 92.19 | 强阳性 | + | - | 9ml |
| ASFV95 | 0.200 | 91.85 | 强阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV96 | 0.243 | 88.51 | 强阳性 | + | - | 6ml |
| ASFV97 | 0.234 | 89.20 | 强阳性 | + | - | 10ml |
| ASFV98 | 0.185 | 92.99 | 强阳性 | + | - | 5ml |
| ASFV99 | 0.254 | 87.67 | 强阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV100 | 0.258 | 87.37 | 强阳性 | + | - | 8ml |
| ASFV101 | 0.205 | 91.42 | 强阳性 | 1∶200 | - | 100ml |
| NC均值 | 1.399 | / | / | / | / | / |
| PC均值 | 0.093 | / | / | / | / | / |

注：英吉纳试剂盒判定标准：阻断率X%≥50%为阳性，阻断率X%≤40%为阳性，介于两者之间的为可疑。

3.2 非洲猪瘟病毒阳性血清（ASFV101#）IFA效价测定结果

图1 非洲猪瘟病毒阳性血清（ASFV101#）IFA检测结果

**4 结论**

本实验共检测了101份血清样品，经英吉纳非洲猪瘟病毒（ASFV）阻断ELISA抗体检测试剂盒及间接免疫荧光试验检测均为非洲猪瘟病毒抗体阳性，经OIE推荐的非洲猪瘟病毒荧光PCR方法检测均为非洲猪瘟病毒阴性，以上样品均经过70℃灭活60分钟后，置-20℃以下保存。

试验负责人：

试验执行人：

试验地点：中国农业科学院哈尔滨兽医研究所