

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°C 灭活 60 分钟后, 置-20°C 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°C 灭活 60 分钟后, 置-20°C 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-PC R	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

编号	INGENASA			IFA 结果	OIE-PC R	数量
	OD 值	X%	判定			
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

编号	INGENASA			IFA 结果	OIE-PC R	数量
	OD 值	X%	判定			
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

编号	INGENASA			IFA 结果	OIE-PC R	数量
	OD 值	X%	判定			
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 $X\% \geq 50\%$ 为阳性，阻断率 $X\% \leq 40\%$ 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