

猪圆环 2 型病毒诊断的高敏配对单抗值得信赖

猪圆环 3 型病毒诊断的高敏配对单抗值得期待

一，研究背景

猪圆环疫苗生产厂家多、疫苗类型多，细数下来有 20-30 种，圆环疫苗分为三大类：全病毒疫苗、嵌合疫苗、基因工程亚单位疫苗（真核表达和原核表达两种）。我们常说圆环病是经济病，因为它直接影响生产效率。如何选择优秀的疫苗成为各级养殖场关心的问题。有文献报道来自江苏 41 个猪场 272 样品中 40 份为 PCV3 阳性，且这 40 份样品中 28 份为 PCV2 和 PCV3 共感染。

株别	生产厂家	生产批号
猪圆环病毒2型灭活疫苗（ZJ/C株）	浙江诗华诺倍威生物技术有限公司	兽药生字110571088
猪圆环病毒2型灭活苗乾元浩疫苗20ml（SH株）	乾元浩生物股份有限公司南京生物药厂	兽药生字（2015）100081069
猪圆环病毒2型灭活疫苗LG株	哈尔滨维科生物技术开发公司	兽药生字（2015）080011071
猪圆环病毒2型灭活疫苗DBN-SX07株	山东华宏生物工程有限公司	兽药生字（2015）150101076
猪圆环病毒2型灭活疫苗SH株	江苏南农高科技股份有限公司	兽药生字（2013）100971069
猪圆环病毒2型灭活疫苗WH株	武汉科前生物股份有限公司	兽药生字（2013）170041087
猪圆环病毒2型灭活疫苗DBN-SX07株	福州大北农生物技术有限公司	兽药生字（2016）130141076
圆环病毒2型基因工程亚单位疫苗VLP	青岛易邦生物工程有限公司	兽药生字（2014）150131096
猪圆环病毒2型灭活疫苗（LG株）	上海海利生物技术股份有限公司	兽药生字（2010）090201071
猪圆环病毒2型灭活疫苗（ZJ/C株）	齐鲁动物保健品有限公司	兽药生字（2013）150251088

目前，猪圆环病的诊断是 PCR 和目测背部腹部的圆环斑点，以往，人们采用各种 PCR 的方法来检测圆环病毒，但是 PCR 方法检测繁琐、对人员和环境要求高，检测成本高，不利于现场、基层检测使用。现在主要集中的大型的正规的检测中心，比如各农业大学的检测中心等。

应市场需要，我们山东绿都生物食品安全检测事业部历时 2 年时间，开发了 6 株鼠单抗，经过配对测试，找出 3 组均可以配对成功，并投入了市场进行临床验证，受到了客户的一致好评，猪圆环 2 型病毒诊断的高敏配对单抗值得信赖，猪圆环 3 型病毒诊断的高敏配对单抗值得期待，猪圆环 3 型配对单抗正在研发中。猪圆环 2 型配对单抗在售畅销。

二，目的意义

- 1, 所开发试纸条产品用于检测各厂家圆环活疫苗中有效抗原的含量, 指导客户与有关监督部门考核产品。
- 2, 所开发试纸条产品用于检测各厂家圆环亚单位 CAP 疫苗中有效抗原的含量, 指导客户与有关监督部门考核产品。
- 3, 所开发试纸条产品用于临床病料的猪圆环病毒诊断, 可用于唾液 (因检测的灵敏度高), 血清, 淋巴结 (含毒量高) 检测猪圆环病毒。

三、鼠单抗质量鉴定

①免疫荧光鉴定

1. PK15 细胞铺 96 孔板一个, 同时接毒, 按照 5%接毒, 每孔接 50ul。
2. 48 小时测定荧光。用 0.01Mpbs 洗三次后弃掉 pbs, 拍干。
3. 加入冷乙醇 (-20℃存放) 固定 20 分钟, 放入-20℃后弃掉上清, 不拍板。
4. pbs 洗三次, 弃上清, 不用拍板, 吸干水分。
5. 加入一抗, 按照 0.1 mg/ml 加入。37℃防置 40 分钟, pbs 洗三次, 吸干水分。
6. 加入二抗 (按 1:40 加入, pbs 稀释) 37 °C防置 40 分钟。Pbs 洗 4 次, 吸干水分, 不拍板, 观察。
7. 显微镜亮度: 1.5 亮度

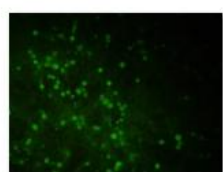
注意: 1. 做不接毒的空白细胞对照。

2. pbs 洗要同一位点加入, 要温柔。

3. 铺板同步接毒。

备 > 单抗相关工作 > PCV 荧光 > 20160923 pcv接毒 42h

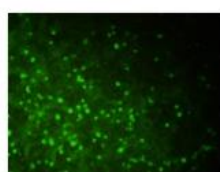
搜索"20160923 pcv接毒 42h"



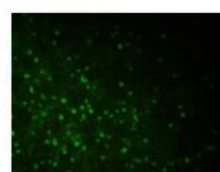
1E1



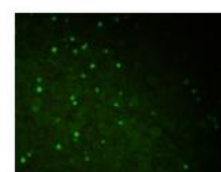
4e10



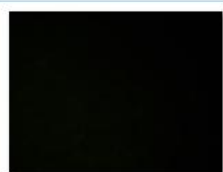
5C2



6E11



7f3



ck

细胞株 Mabs: 6E11 7F3 4E10 1E1 5C2 4E10 均具有强荧光。 可用于免疫荧光, WB, ELISA, IHC 等体外免疫诊断。

②胶体金鉴定



所开发试纸条产品显示: 1, 所开发试纸条产品用于检测各厂家圆环活疫苗中有效抗原的含量, 可以将油佐剂疫苗冷冻破乳化, 但不可以用乙醇和二甲基亚砷等使蛋白变性的有机溶剂破乳化。

2, 所开发试纸条产品用于检测各厂家圆环亚单位 CAP 疫苗中有效抗原的含量。

3, 所开发试纸条产品用于临床病料的猪圆环病毒诊断, 可用于唾液 (因检测的灵敏度高), 血清, 淋巴结 (含毒量高) 检测猪圆环病毒。

配对情况: 5C2-4E10; 5C2-6E11

推荐使用浓度: 胶体金: 5 微克/ml 金液, 划线 0.3-0.6mg/ml

ELISA: 1: 50 000-50 0000

WB 及免疫组化, 免疫荧光: 1:50-1: 500

③ 特异性、符合率、稳定性、灵敏度、假阳性率、假阴性率

特异性： 本配对抗体开发的试纸条产品只识别圆环 2 型病毒和亚单位 cap2。

符合率： 本试纸条与 IDEXX 产品符合率为 98%, 与 PCR 符合率 99%。

稳定性： 本试纸条常温的保质期为 36 个月。

灵敏度： 不低于 PCR 的灵敏度。

假阳性率： <5%

假阴性率： 0%

四、 配套羊抗鼠二抗与万能 C 线反应蛋白； PCV 纯化标准阳性 抗原。

五、产品说明书附录

生产公司： 山东绿都生物科技有限公司

地址： 山东省滨州市黄河二路 169 绿都生物高科技园

网址： <http://www.lvdu.net>

24 小时技术服务： 18266598399 武经理

传真： +86-0543-3418283

Email: lvdukeji@126.com

邮编： 256600