

用于猪瘟病毒诊断的高敏配对单抗上市

一，研究背景

猪瘟病毒是 ssRNA 病毒，黄病毒科瘟病毒属，其 RNA 为单股正链。病毒粒子呈圆形，大小为 38~44nm，核衣壳是立体对称二十面体，氯化铯中浮密度 1.15~1.17g/ml，有包膜。猪瘟病毒在细胞质内复制，不能凝集红血球，与牛腹泻病毒有相关抗原。该病毒对乙醚敏感，对温度、紫外线、化学消毒剂等抵抗力较强。

猪瘟病毒能在猪胚或乳猪脾、肾、骨髓、淋巴结、白血球、结缔组织或者肺组织的细胞中培养，但在这些细胞上不产生明显病变。可利用鸡新城疫病毒强化试验（END 试验）测定猪瘟病毒，作为诊断猪瘟的一种方法。

临床诊断方法有：1. 动物接种试验易感猪接种是检测猪瘟病毒的最敏感方法。采取发病猪的血液或病死猪的淋巴结、脾脏、扁桃体等组织制成乳剂，无菌处理后接种易感猪（10-20Kg），观察发病情况，然后再分离病毒。通常采用兔体交叉免疫试验。2、检测血清抗体检测血清抗体可为猪瘟免疫提供依据，特别是酶联免疫吸附试验对检测非典型猪瘟和温和性猪瘟有重要作用。3、检测猪瘟病毒直接免疫荧光抗体技术是检测猪瘟病毒的一种快速诊断方法，该方法是采取猪的扁桃体或者猪肾、脾等组织做冰冻切片或触片，经丙酮固定，荧光抗体染色，在荧光显微镜下观察，如果这些组织细胞内发现有亮绿色荧光，说明细胞内存在猪瘟病毒，即可诊为猪瘟。

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 38 株抗猪瘟鼠单抗，经过配对测试，找出 1 组可以配对成功，并投入了市场进行临床验证。

二，目的意义

1，所开发试纸条产品用于检测各厂家猪瘟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临床病料的猪猪瘟病毒诊断，可用于扁桃体或者猪肾、脾等组织用于检测猪瘟病毒。

三、鼠单抗质量鉴定

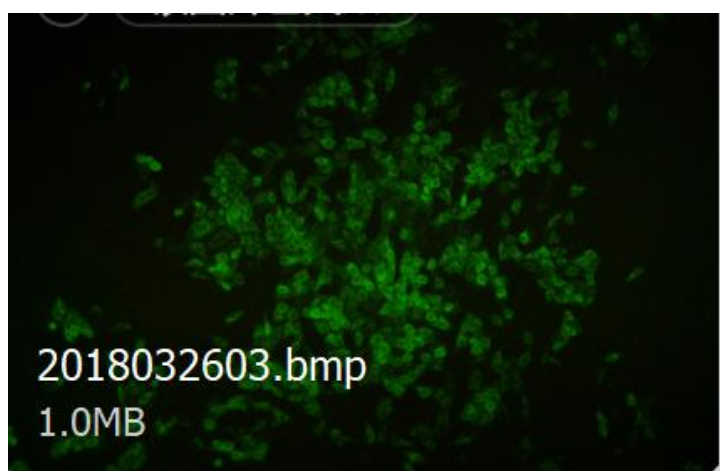
①免疫荧光鉴定

1. ST 细胞铺 96 孔板一个，同时接毒，按照 5%接毒，每孔接 50ul。
2. 48-120 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

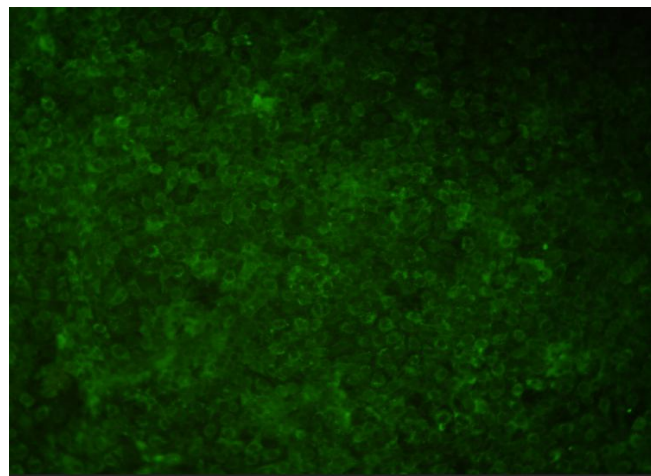
注意：1. 做不接毒的空白细胞对照。

2. pbs 洗要同一位点加入，要温柔。

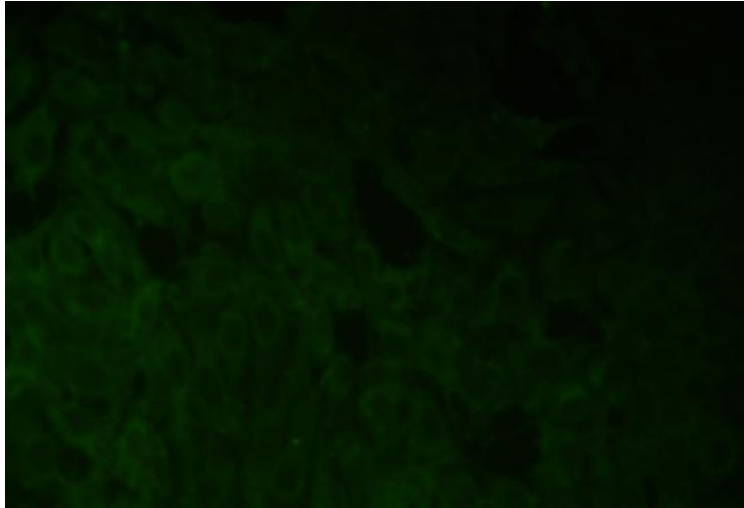
3. 铺板同步接毒。



10A2 株



18G4 株



CK

细胞株 Mabs: 10A2 18G4 均具有强荧光。可用于免疫荧光, WB, ELISA, IHC 等体外免疫诊断。

②胶体金初步鉴定



18G4 标记金, 10A2 划线组合, 测定病毒液 1:5 稀释, 效果显著。

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猪瘟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临床病料的猪猪瘟病毒诊断，可用于扁桃体或者猪肾、脾等组织用于检测猪瘟病毒。

配对情况： 10A2-18G4

推荐使用浓度： 胶体金： 5 微克/ml 金液，划线 0.5-1mg/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猪瘟病毒, 与其他病毒无交叉反应。

符合率： 本试纸条与 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； CSFV 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 小时技术销售服务： 18266598399 武经理

传真： +86-0543-3418283

Email： lvdukeji@126.com

邮编： 256600