



INgezim® Leishmania 2.0

R.15.LS2.K1

INgezim® Leishmania 2.0 está basado en un ensayo inmunoenzimático (ELISA indirecto) que utiliza una proteína recombinante de una quinesina de *L. Infantum* en combinación con una proteína A/G. Ensayo DIVA para la diferenciación de animales infectados o vacunados.

CARACTERÍSTICAS DEL KIT

APLICACIÓN

Detección de anticuerpos frente a *Leishmania* en suero o sangre. Se trata de un ensayo DIVA para la diferenciación de animales infectados o vacunados. El ensayo puede realizarse tanto manualmente como con equipos automáticos.

BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se suministran tapizadas con proteína recombinante de *L. infantum*. Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si las muestras contienen anticuerpos específicos de *Leishmania*, éstos se unirán al antígeno.
3. Al añadir el sustrato específico de Peroxidasa, se detectará una reacción colorimétrica en presencia del conjugado.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

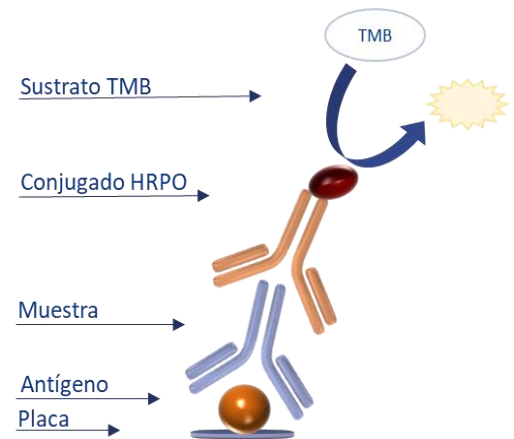
El ensayo establece dos cut off: positivo y negativo.

Muestras Positivas: Abs > al cut off positivo.

Muestras Negativas: Abs ≤ al cut off negativo.

Muestras Dudosas: Abs se encuentra entre los dos cut off.

Titulación: El título de la muestra será la última dilución cuya Abs está por encima mayor del cut off positivo.



VALIDACIÓN DEL ENSAYO

SENSIBILIDAD DIAGNÓSTICA

Se analizaron 152 sueros de perro clasificados como positivos por INgezim® LEISHMACROM. Los animales utilizados son 69 sueros de procedencia española, 15 sueros procedentes de Brasil y 68 sueros procedentes de Alemania, de los cuales 50 fueron analizados por IFA. Los resultados obtenidos indicaron una sensibilidad relativa o PPA respecto a INgezim® LEISHMACROM del 93% (141/152).

La sensibilidad diagnóstica respecto a IFA fue del 85% en este estudio utilizando las 50 muestras positivas por IFA.

ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA

Se analizaron 276 sueros de perros clasificados como negativos por el producto comercial INgezim® LEISHMACROM. Los animales utilizados son 212 sueros de procedencia española negativos, 21 sueros procedentes de Brasil, 43 sueros procedentes de Alemania, los cuales 24 fueron analizados por IFA.

Los resultados obtenidos indicaron una especificidad relativa o NPA respecto a INgezim® LEISHMACROM del 99,6%.

La especificidad diagnóstica respecto a IFA fue del 95,8% en este estudio utilizando las 24 muestras negativas por IFA.

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

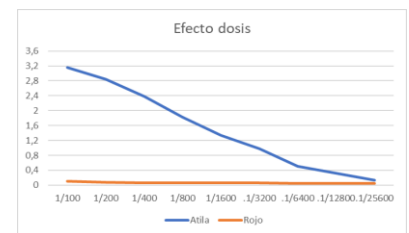
Se analizaron sueros de animales enfermos de Babesiosis canina y negativos a Leishmaniosis por Inmunofluorescencia indirecta (IFA). Los resultados obtenidos indicaron que no existe cross-reacción con anticuerpos específicos de este agente.

A su vez, se realizaron otros estudios con animales infectados por otros agentes, en los que se demostró que el kit no muestra crossreacción con *Babesiosis canina*, *Giardia duodenalis*, *Dirofilaria repens*, *Toxocara canis*, *Ehrlichia canis*, *Ancylostoma caninum* o *Anaplasmosis*

COHERENCIA EFECTO-DOSIS

Se analizaron diluciones seriadas factor 2 de un suero positivo y de un suero negativo.

Los valores obtenidos indicaron que el ensayo responde correctamente ante la dilución de una muestra variando proporcionalmente las DO450nm obtenidas.



SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Se analizó el mismo suero que para determinación de coherencia efecto-dosis caracterizado previamente por IFI con título de IFI 1/3200. El ensayo es capaz de detectar como positiva la dilución 1/6400 de este suero.

USO DE EQUIPOS AUTOMÁTICOS

El ensayo puede realizarse tanto manualmente como en equipos automáticos. Con objeto de confirmar que el ensayo funciona correctamente, se realizó una validación con un equipo automático.

COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos
- Viales con Control Positivo
- Viales con Control Negativo
- Viales con Conjugado de Peroxidasa
- Frasco con Solución de Lavado
- Frasco con Diluyente
- Frasco con Substrato (TMB)
- Frasco con Solución de Frenado

Nº de registro en España:

CADUCIDAD: 24 MESES

Conservado a 2°C-8°C



GOLD STANDARD DIAGNOSTICS MADRID, S.A.
C/Hermanos García Noblejas 39, 8º
28037 MADRID (SPAIN)
Tel: (+34)91 3680501



INgezim® Leishmania 2.0

R.15.LS2.K1

INgezim® Leishmania 2.0 is based on an indirect enzymatic immunoassay (indirect ELISA), using a recombinant protein of a *L. infantum* kinesin in combination with an A/G protein. It is a DIVA assay for differentiation of infected or vaccinated animals.

KIT FEATURES

APPLICATION

Detection of specific antibodies to *Leishmania* in canine serum or blood. This is a DIVA assay for the differentiation of infected or vaccinated animals. The assay can be performed either manually or with automated equipment.

TECHNICAL BASIS OF THE KIT

1. Plates are supplied coated with recombinant protein of *L. infantum*. The samples are added to the wells and incubated.
2. If the samples contain *Leishmania* specific antibodies, these will bind to the antigen.
3. When the specific Peroxidase substrate is added, a colorimetric reaction will be detected in the presence of the conjugate.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

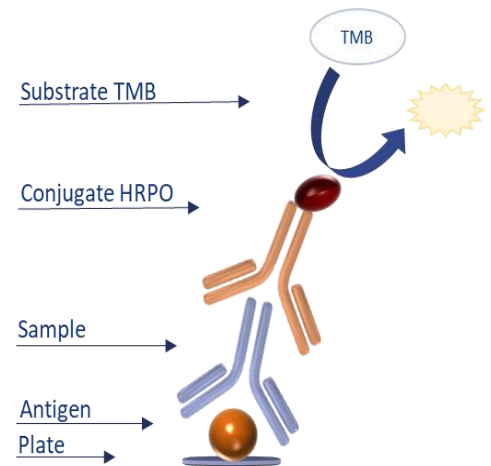
The assay establishes two cut offs: positive and negative.

Positive samples: OD > the positive cut off.

Negative Samples: OD is ≤ the negative cut off.

Doubtful Samples: OD is between the two cut offs.

Titration: The titer of the sample will be the last dilution showing and OD higher than the positive cut off.



ASSAY VALIDATION

DIAGNOSTIC SENSITIVITY

152 canine sera classified as positive by INgezim® LEISHMACROM were analyzed. The animals used were 69 sera from Spain, 15 sera from Brazil and 68 sera from Germany, of which 50 were analyzed by Indirect Immunofluorescence Assay (IFA). The obtained results indicated a relative sensitivity or PPA with respect to INgezim® LEISHMACROM of 93% (141/152).

The diagnostic sensitivity with respect to IFA was 85% in this study using the 50 IFA-positive samples.

DIAGNOSTIC SPECIFICITY

A total of 276 canine sera from classified as negative by the commercial product INgezim® LEISHMACROM were analyzed. The animals used were 212 negative sera from Spain, 21 sera from Brazil, 43 sera from Germany, of which 24 were analyzed by IFA.

The obtained results indicated a relative specificity or NPA with respect to INgezim® LEISHMACROM of 99.6%.

The diagnostic specificity for IFA was 95.8% in this study using the 24 IFA-negative samples.

ANALYTICAL SPECIFICITY

Sera from canine Babesiosis and Leishmaniosis negative animals were analyzed by IFA. The obtained results indicated that there is no cross-reaction with specific antibodies to this agent.

At the same time, other studies were carried out with animals infected by other agents, in which it was demonstrated that the kit does not show cross-reaction with canine *Babesiosis*, *Giardia duodenalis*, *Dirofilaria repens*, *Toxocara canis*, *Ehrlichia canis*, *Ancylostoma caninum* or *Anaplasmosis*.

DOSE-EFFECT COHERENCE

Serial factor 2 dilutions of a positive serum and a negative serum were analyzed.

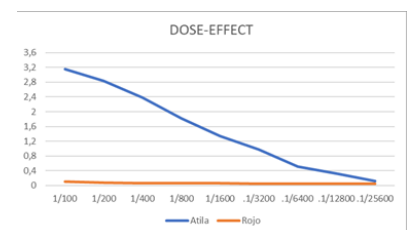
The obtained values indicated that the assay responds correctly to the dilution of a sample by varying proportionally the obtained OD 450nm.

ANALYTICAL SENSITIVITY

The same serum was analyzed as for the determination of dose-effect coherence previously characterized by IFA with titer 1/3200. The assay is able to detect as positive the 1/6400 dilution of this serum.

USE OF AUTOMATIC EQUIPMENT

The assay can be performed either manually or on automatic equipment. In order to confirm that the test works correctly, a validation was carried out with automatic equipment.



COMPOSITION OF THE KIT

- 96 wells microtitration plates
- Vials with Positive Control
- Vials with Negative Control
- Vials with conjugate
- Bottle with washing solution
- Bottle with diluent
- Bottle with substrate (TMB)
- Bottle with stop solution

Registration number in Spain:
EXPIRATION: 24 MONTHS
Stored at 2°C-8°C



GOLD STANDARD DIAGNOSTICS MADRID, S.A.
C/Hermanos García Noblejas 39, 8º
28037 MADRID (SPAIN)
Tel: (+34)91 3680501
<http://www.goldstandarddiagnostics.com/>