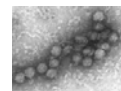


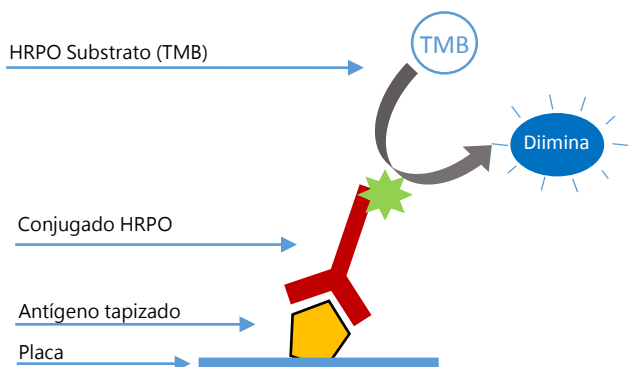
INGENASA

INgezim WEST NILE Compac

R.10.WNV.K3



INgezim WEST NILE COMPAC es un ensayo enzimático basado en la técnica ELISA de bloqueo, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico del dominio III de la proteína E del virus del Nilo Occidental (WNV).



BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se suministran tapizadas con antígeno de WNV (extracto de proteínas). Las muestras de suero se añaden en los pocillos y se incuban. **Sólo son necesarios 10µl de muestra.**
2. Si las muestras contienen anticuerpos específicos de WNV, éstos se unirán al antígeno.
3. Cuando se añade un AcM-PO específico de la proteína E, éste se unirá a la proteína sólo si no hay anticuerpos de la muestra bloqueando el antígeno (animales negativos). En caso de que haya anticuerpos bloqueando el antígeno (animales infectados o vacunados), el conjugado no podrá unirse a él. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de sustrato.

APLICACIÓN

Detección de anticuerpos específicos del Virus del Virus del Nilo Occidental, en muestras de suero de caballo y aves.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos Cut Off: Las muestras se considerarán Positivas cuando su valor de DO sea igual o inferior al Cut Off positivo. Las muestras se considerarán Negativas cuando su valor de DO sea igual o superior al Cut Off negativo.

VALIDACIÓN

SUEROS DE REFERENCIA (OIE)

Se analizaron tres sueros de referencia de la OIE (USDA, APHIS). Todos ellos dieron los resultados esperados

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Se analizaron las muestras obtenidas de la infección experimental de 6 perdicas (aislado Spain/2007), 3 perdicas (aislado Marruecos /2003), 2 perdicas de contacto y 2 conejos (WNV NY99-crow). Los resultados obtenidos indicaron que el ensayo es capaz de detectar anticuerpos específicos de WNV desde el día 6 post infección.

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

No existe cross-reacción con anticuerpos específicos de TBEV. Se ha detectado cross-reacción con anticuerpos específicos del virus de la Encefalitis japonesa. Respecto a USUTU, se ha detectado cross-reacción en 2 (1 ave, 1 pony) de 12 muestras analizadas (6 ratones, 5 aves, 1 pony)

SENSIBILIDAD DIAGNÓSTICA

- 5 sueros de caballos y 25 de aves, todos ellos infectados de forma natural por WNV y positivos por Seroneutralización (SN). Todos los animales resultaron positivos por INgezim WNV Compac.
- 17 sueros de caballo procedentes de un brote de Linaje 2 en Italia en 2013 y previamente catalogados como positivos a IgM. INgezim WNV Compac reconoce todos como positivos.

ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA

Se analizaron 86 sueros de caballos procedentes de Doñana, 247 sueros de grajillas y 254 sueros de flamencos; todos ellos negativos por SN y 512 sueros de caballos recogidos durante los años 2001, 2002 y 2004 en zonas de España sin reporte previo de seropositividad a WNV. Los resultados obtenidos indicaron 98,8% de especificidad en aves y 96% en caballos respecto a SN. Por otra parte, la especificidad fue del 99,8% al analizar caballos de zonas sin reporte de seropositividad.

COMPARATIVA CON OTROS KITS COMERCIALES

Se analizaron 143 sueros de aves (20 positivos y 123 negativos por SN) y los resultados se compararon con los obtenidos por el kit ID Screen® West Nile Competition ELISA y con SN. 49 de estos sueros fueron positivos por ID-Screen®, INgezim WNV detectó 37 positivos (en ambos casos los 20 sueros positivos por SN están incluidos en los positivos por los dos ensayos).

RING TRIAL (Proficiency test ANSES 2013)

Comparativa con IDScreen WNV competition kit. Las conclusiones respecto a los dos ensayos más utilizados en los laboratorios europeos fueron:

- INgezim WNV Compac presenta mayor especificidad que IDscreen WNV respecto a un suero de caballo infectado con TBEV siendo positivo por IDscreen y negativo por INgezim.
- INgezim WNV Compac presenta mayor sensibilidad que IDscreen WNV detectando un suero de caballo infectado con Linaje 1 a día 8 p.i. siendo positiva sólo para INgezim WNV Compac.

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) listo para usar.
- Frasco con Solución de Frenado.



NÚMERO DE REGISTRO 1815 RD
PRODUCTO FABRICADO POR INGENASA

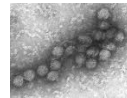


CADUCIDAD: **12 meses**
Conservar entre 2-8°C

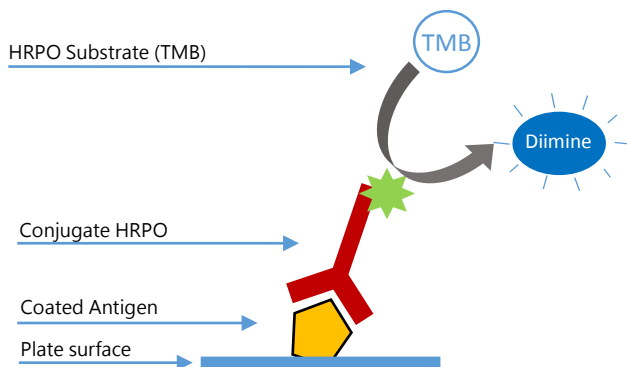
Ed.020217

INgezim WNV Compac

R.10.WNV.K3



INgezim WEST NILE COMPAC is an enzymatic assay based on a blocking ELISA assay technique, which uses a monoclonal antibody (MAb) specific to the domain III of the E protein of West Nile Virus (WNV).



TECHNICAL BASIS OF THE KIT

1. Plates are supplied coated with a semipurified extract of WNV proteins. Serum samples are added and incubated. **Only 10µl of sample is required.**
2. If the samples contain antibodies specific to WNV, they will bind the antigen.
3. When a MAb-PO specific to protein E is added, only if there are no antibodies in the sample blocking the antigen (negative animals), it will bind to the protein. In case the sample contains antibodies blocking the antigen (infected animals), the conjugate will not be able to bind to it. The binding is detected by the development of a colorimetric reaction after the addition of the substrate.

APPLICATION

Detection of specific antibodies to WNV, in equine and avian serum samples.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

Two cut offs are used for the results interpretation: Samples with OD values equal to or lower than the positive cut off are considered **Positive**. Samples with an OD value equal to or higher than the negative cut off are considered **Negative**. Samples with an OD value within the range of both cut offs will be considered as **Doubtful**.

VALIDATION

OIE REFERENCE SERA

Three OIE Reference sera (USDA, APHIS) were analyzed. All of them showed the expected results.

ANALYTICAL SENSITIVITY

Samples from an experimental infection of 6 partridges (isolate Spain/2007), 3 partridges (isolate Morocco/2003), 2 partridges as control and 2 rabbits (WNV NY99-crow) were analyzed. The results obtained indicate that the assay detects specific antibodies of WNV since day 6 post infection.

ANALYTICAL SPECIFICITY (experimental studies)

There is no cross-reaction with specific antibodies of TBEV. Cross reaction with JEV specific antibodies has been detected. Regarding USUTU, cross-reactions were found in 2 (1 mouse, 1 pony) out of the 12 samples analyzed (6 mice, 5 birds, 1 pony).

DIAGNOSTIC SENSITIVITY

- 5 equine sera and 25 bird sera, all of them naturally infected with WNV and positive by Seroneutralization (SN) were analyzed. The 30 sera were detected by INgezim WNV COMPAC as positive.
- 17 equine sera from a Linage2 outbreak occurred in Italy in 2013 and previously classified as IgM positive. INgezim WNV Compac detected all of them as positive.

DIAGNOSTIC SPECIFICITY

86 equine sera from Doñana, 247 sera of Common grackle and 254 of Flamingo, all of them negative by SN, and 512 equine sera from Spanish areas where no previous seropositivity had been reported (years 2001, 2002 & 2004) were analyzed. The results obtained indicated 98,8% specificity in birds and 96% in horses, both in relation to SN. On the other hand, the specificity resulted to be 99,8% in the study made with horses from Spanish areas where no previous seropositivity had been reported.

COMPARATIVE STUDY WITH OTHER COMMERCIAL KITS

143 Sera of birds (20 positive and 123 negative by SN) were analyzed and the results were compared with the ones obtained by the kit ID Screen® West Nile Competition ELISA and with SN. 49 of these sera were positive by ID-Screen® and INgezim WNV detected 37 positive (the 20 ones positive by SN were detected as positive by both assays).

RING TRIAL (Proficiency test ANSES 2013)

Comparative study with IDScreen WNV competition assay. Conclusions regarding the two most commonly used assays were:

- The Ingezim WNV Compaq kit appeared to be more specific than the IDScreen WNV competition kit with a TBEV-infected pony not detected with INgezim while positive with IDScreen.
- The Ingezim WN Compaq kit appeared to be more sensitive than the IDScreen WNV competition kit with the a serum sampled on day 8 post-infection with WNV lineage 1 strain found positive with Ingezim WN Compaq kit only.

COMPOSITION OF THE KIT

- Microtitration plates of 96 wells
- Vials with Positive Control
- Vials with Negative Control
- Vials with Peroxidase Conjugate
- Bottle with Washing Solution
- Bottle with diluent
- Bottle with stop solution
- Bottle with substrate (TMB) ready to use



REGISTRATION NUMBER 1815 RD
PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA



SHELF LIFE: **12 months**
Stored at 2-8°C

Ed.020217