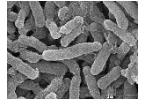
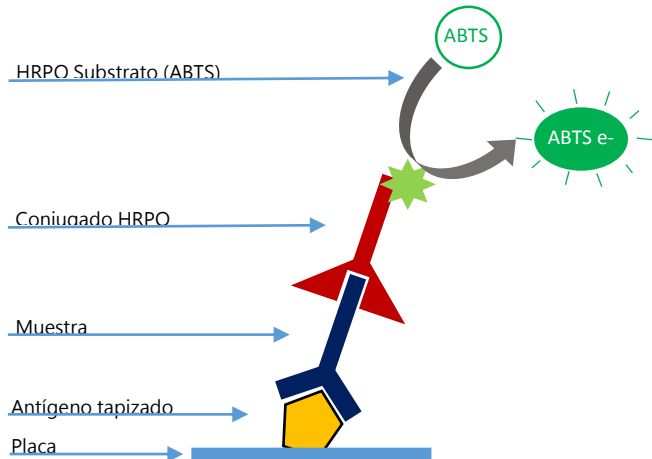


INgezim HAEMOPHILUS PARASUIS

R.11.HPS.K1



INgezim Haemophilus parasuis está basado en la técnica de ELISA indirecto, que utiliza como conjugado un anticuerpo policlonal específico de inmunoglobulinas porcinas y como antígeno, extracto crudo de proteínas de HPS.



BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se suministran tapizadas con extracto crudo de HPS. Las muestras de suero se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si las muestras contienen anticuerpos específicos frente al Haemophilus parasuis, éstos se unirán al antígeno.
3. Cuando se añade un conjugado-PO específico frente a IgGs porcinas, éste se une a la IgGs unidas al antígeno. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de substrato.

APLICACIÓN

El ensayo INgezim Haemophilus parasuis ha sido diseñado para el diagnóstico de infecciones por HPS (enfermedad de Glasser) mediante la detección de incremento de anticuerpos (seroconversión) específicos y para evaluación de la respuesta a vacunación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos Cut Off: Las muestras con un valor de DO superior o igual al Cut Off positivo se consideran **Positivas**, y las muestras con un valor de DO inferior al Cut Off negativo se consideran **Negativas, con un rango de dudosos entre éstos 2 valores.**

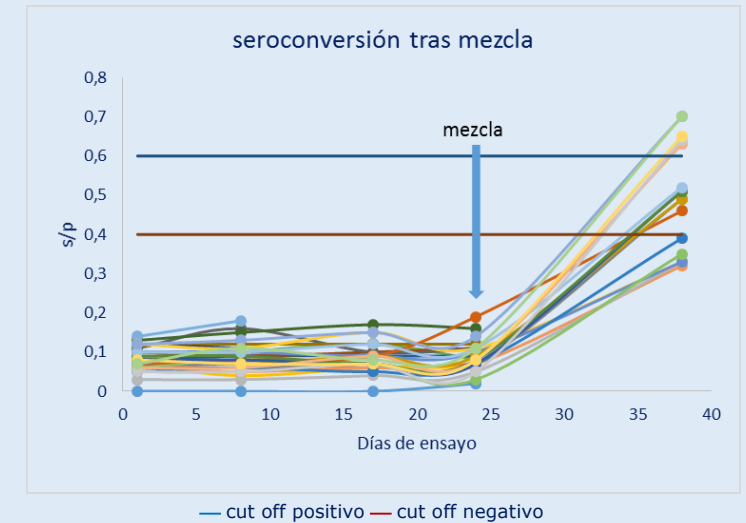
VALIDACIÓN

1. Precocidad de detección de anticuerpos específicos

El experimento se realizó con cerdos procedentes de una granja libre de HPS (PCR, aislamiento). 30 cerdos (grupo A) fueron transferidos a una estancia aislada a la edad de 5 meses. Fueron sangrados a días 1, 8 y 17 y los sueros fueron analizados por INgezim® HPS. A día 24, los cerdos fueron mezclados con otro grupo infectado por HPS y se sangraron finalmente a día 38 y los sueros fueron examinados por INgezim® HPS. Estos cerdos mostraron S/P bajas y estables (<0,2) desde el día 1 al 24. No se observaron síntomas clínicos y fueron negativos por aislamiento y por PCR a días 8 y 17 sugiriendo que no habían sido infectados. Pocos días después de ser mezclados algunos cerdos del grupo A comenzaron a mostrar síntomas clínicos compatibles con la enfermedad de Glasser (fiebre, anorexia y cojera). Algunos de ellos murieron y mostraron lesiones compatibles con esta enfermedad. Se aisló HPS de algunos de estos cerdos (cepa no tipificable). Los animales supervivientes mostraron un incremento significativo de las S/P a día 38 (**14 días después de ser mezclados con el grupo positivo**).

2. Especificidad

La determinación de la especificidad del ensayo resulta muy complicada debido a que HPS está presente en la mayoría de las granjas incluyendo aquellas con elevado estatus sanitario. En este estudio se utilizaron 50 animales de una granja libre de HPS analizados en 4 ocasiones separadas 3 semanas entre sí. Todos los animales resultaron ser negativos en todo momento.



3. Sensibilidad frente a diferentes serovares

Se analizaron sueros de animales experimentalmente inmunizados con los **serovares: 1, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 y 15**. El ensayo es capaz de detectar anticuerpos específicos frente a todos ellos

COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos
- Viales con Control Positivo
- Viales con Control Negativo
- Viales con Conjugado
- Frasco con Solución de Lavado concentrado
- Frasco con Diluyente
- Frasco con Substrato
- Frasco con Solución de Frenado



PRODUCTO REGISTRADO (1215RD) Y
DISTRIBUIDO POR INGENASA



IT-73840
IT-73780



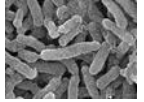
ISO 9001:2015 ISO 9001:2015
9191.INGE 9175.ING2

CADUCIDAD: **18 meses**
Conservado a 2°C-8°C

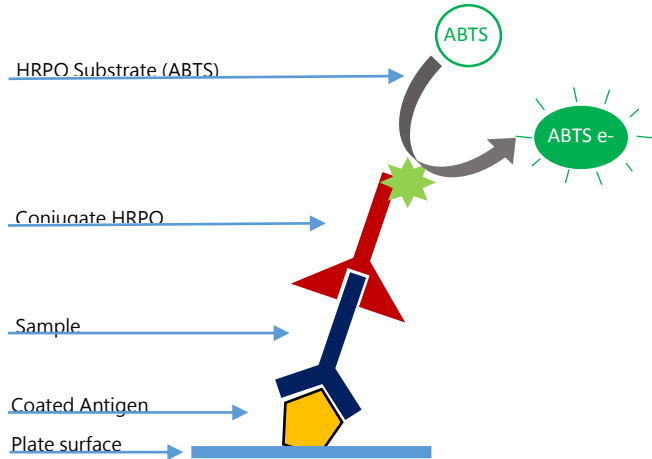
Ed.020217

INgezim HAEMOPHILUS PARASUIS

R.11.HPS.K1



INgezim Haemophilus parasuis is based on the Indirect ELISA technique which uses a polyclonal antibody specific of porcine immunoglobulines as conjugate and a crude extract of proteins of Haemophilus parasuis (HPS) as antigen.



TECHNICAL BASIS OF THE KIT

1. Plates are coated with a crude extract of HPS. Serum samples are added and incubated.
2. If the samples contain specific antibodies to Haemophilus parasuis, they will bind to the antigen.
3. When the conjugate specific of porcine Igs is added, it will bind to the Igs bound to the antigen. The binding is detected by the development of a colorimetric reaction after the addition of the substrate.

APPLICATION

INgezim Haemophilus parasuis has been designed for diagnosis of infections by HPS (Glasser Disease) detecting increase of specific antibodies (seroconversion) and for evaluation of the vaccination response

INTERPRETATION OF THE RESULTS

The assay uses two Cut offs: Samples showing OD values higher than or equal to the positive cut off will be considered **positive**. Samples showing OD values lower than the negative Cut off must be considered **negative**. There is a range of doubtful samples between these two values.

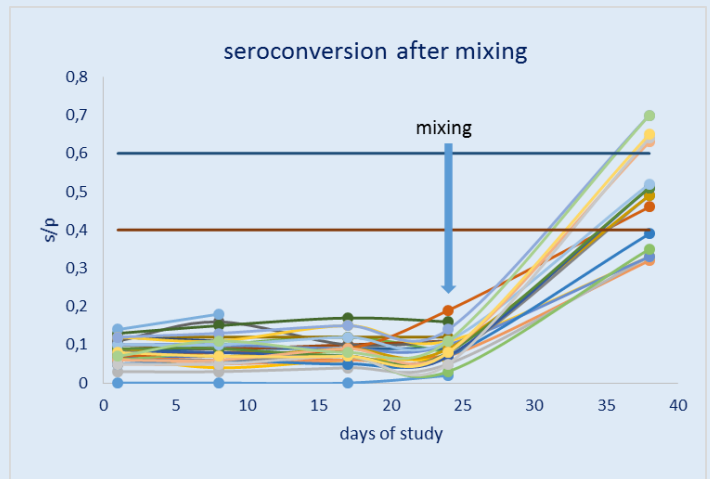
VALIDATION

1. Early detection of specific antibodies

The experiment was conducted with pigs originating from a high health status herd (PCR, isolation). 30 pigs (group A) were transferred to an isolated barn when about 5 month old. They were bled on days 1, 8 and 17 and the sera were examined using INgezim HPS. On day 24 pigs from another herd HPS positive were introduced and mixed with the pigs already present. They were bled on day 38 and sera were examined using INgezim HPS. These pigs demonstrated low (<0.2) and stable S/P from day 1 to 24. No clinical signs were observed and bacterial isolation and PCR performed on day 8 and 17 were negative for HPS suggesting that they were not infected. A few days after mixing, pigs from group A demonstrated clinical signs compatible with Glasser's disease (fever, anorexia, lameness). Some of them died and demonstrated lesions compatible with Glasser's disease. HPS was isolated from several pigs (untypable strain). Surviving pigs demonstrated a significant increase in S/P on day 38 (**14 days after mixing with pigs from the HPS positive source**)

2. Specificity

Determination of the specificity is very difficult due to the fact that HPS is present in most of herds including those with a high health status. There were used 50 animals from a HPS free herd, analysed in 4 separate occasions 3 weeks apart. All these animals were negative during the process.



— positive cut off — negative cut off

3. Sensitivity to different serovars

Sera of animals experimentally infected with **serovars: 1, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 and 15** were analysed. This assay is able to detect specific antibodies to all of them.

COMPOSITION OF THE KIT

- Microtitration plates of 96 wells
- Vials with Positive control
- Vials with Negative control
- Vials with Conjugate
- Bottle with washing solution
- Bottle with diluent
- Bottle with substrate
- Bottle with stop solution



PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA
Registration number 1215 RD



IT-73840 ISO 9001:2015
IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

SHELF LIFE: **18 months**
Store at 2°C-8°C

Ed.020217