

INgezim® West Nile IgM

R.14.WNV.K.2

INgezim® West Nile IgM es un ensayo inmunoenzimático basado en la técnica ELISA de captura que utiliza un anticuerpo monoclonal específico de IgM equina y un anticuerpo monoclonal específico del dominio III de la proteína E del virus de West Nile (WNV).

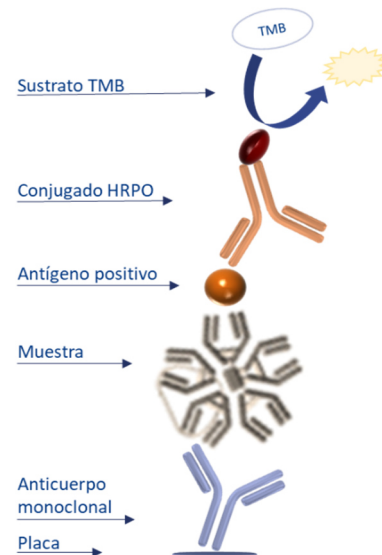
CARACTERÍSTICAS DEL KIT

APLICACIÓN

Detección de anticuerpos IgM específicos de la proteína E del virus de West Nile en suero de équidos.

BASE TÉCNICA

1. Las placas se suministran tapizadas con un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de IgM de équidos. Las muestras se añaden en los pocillos por duplicado y se incuban.
2. Si las muestras contienen IgMs (específicas de WNV o no) estas se unirán al anticuerpo específico que se encuentra tapizado en la placa.
3. Al añadir antígeno de WNV, la proteína E de WNV será capturada por las IgM específicas de la muestra. Se utiliza a su vez, un antígeno negativo para determinación de reacciones inespecíficas.
4. El anticuerpo monoclonal conjugado con Peroxidasa, específico de la proteína E de WNV, que se añade posteriormente, se unirá al antígeno en el caso de que haya sido capturado por las IgM de la muestra (animales infectados). Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras la adición del sustrato.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos cut off, que clasificarán las muestras como **Positivas** o **Negativas**, en función del valor de la densidad óptica de la muestra en el ensayo, considerando un rango de densidades ópticas cercanas a los cut off como resultados **Dudosos**.

VALIDACIÓN DEL ENSAYO

VALIDACIÓN CON SUEROS DE REFERENCIA APHIS

Se analizaron dos sueros de referencia procedentes de APHIS (USDA):

- Suero de caballo infectado con la cepa N.Y.99, positivo por seroneutralización.
- Suero de caballo infectado con la cepa N.Y.99, IgM positivo.

Ambos sueros fueron detectados como positivos por INgezim® West Nile IgM.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Se analizaron diferentes extracciones realizadas a caballos vacunados, en los días 0, 14, 21, 28, 42, 56, 70 y 85 post-vacunación.

El ensayo fue capaz de detectar IgM específicas de WNV desde el **día 14 post-vacunación**.

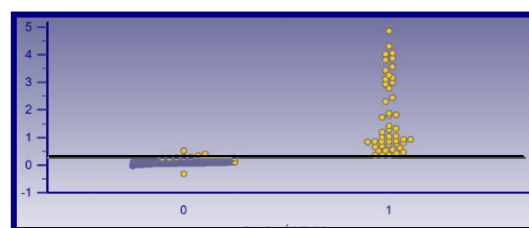
RING TRIAL (Proficiency test, ANSES)

El ensayo INgezim® West Nile IgM participó en dos Ring Test organizados por Anses (2013 y 2020). Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

- **2013:** Según se indica en el informe final, INgezim® West Nile IgM presenta **mayor sensibilidad** que todos los ensayos comerciales disponibles en el mercado que participaron también en el Ring Test.
- **2020:** Según se indica en el informe final, INgezim® West Nile IgM presenta **mayor sensibilidad** en comparación con otro ensayo comercial disponible en el mercado.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICAS (ANÁLISIS ROC)

Estudio 1: se analizaron 14 sueros de caballos infectados de forma natural por WNV, 1 suero de referencia positivo por seroneutralización (SN), 1 suero de referencia positivo a IgM específicas de WNV, 3 sueros de caballos vacunados positivos por otros ensayos comerciales, 404 sueros de caballos procedentes de zonas libres de WNV y 28 sueros de campo de animales infectados procedentes de los 3 brotes aparecidos en España (2010-2012) que mostraron resultados positivos por otro ensayo comercial. La **especificidad y sensibilidad** obtenidas en el ensayo fueron **mayores de 99,5%**.



Estudio 2: se analizaron 17 sueros de caballo procedentes de un brote de Linaje 2 en Italia en 2013 y previamente catalogados como positivos. INgezim® West Nile IgM reconoció 16 como positivos.

COMPOSICIÓN DEL KIT

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

Registro nº 2863 RD
CADUCIDAD: 18 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

<http://www.goldstandarddiagnostics.com/>

INgezim® West Nile IgM

R.14.WNV.K.2

INgezim® West Nile IgM is an immunoenzymatic assay based on the capture ELISA technique which uses a monoclonal antibody specific to equine IgM and a monoclonal antibody specific to West Nile Virus (WNV) E protein (Domain III).

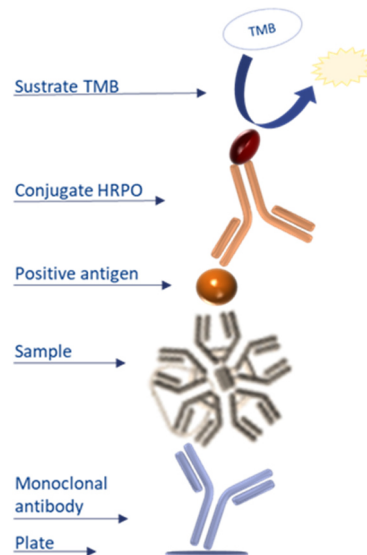
KIT FEATURES

APPLICATION

Detection of West Nile IgM specific antibody in equine serum samples.

TECHNICAL BASE

1. Plates are supplied coated with a MAb specific of equine IgMs. Samples are added by duplicate to the wells and incubated.
2. If the samples contain IgMs (WNV specific or not), they will bind to the MAb coated.
3. Once the WNV antigen is added, the E protein will be captured by the specific IgM from the sample. A negative antigen is also used to determine unspecific reactions.
4. The WNV specific MAb-HRPO added later will bind to the antigen in case it has been captured by the specific IgM of the sample (infected or vaccinated animals). This binding is detected by adding a specific substrate.



RESULTS INTERPRETATION

The assay establishes two cut offs, which will classify the samples as **Positive** or **Negative**, depending on the value of the optical density of the sample in the assay, considering a range of optical densities close to the cut offs as **Doubtful** results.

ASSAY VALIDATION

VALIDATION WITH APHIS REFERENCE SERA

Two reference Sera from APHIS (USDA) were analysed:

- Equine serum infected with strain N.Y.99, positive by seroneutralization.
- Equine serum infected with strain N.Y.99, IgM positive.

Both sera were detected as positive.

ANALYTICAL SENSITIVITY

Different extractions made to vaccinated animal on days 0, 14, 21, 28, 42, 56, 70 and 85 post vaccination were analysed.

The assay was able to detect specific IgM to WNV from **day 14 post vaccination**.

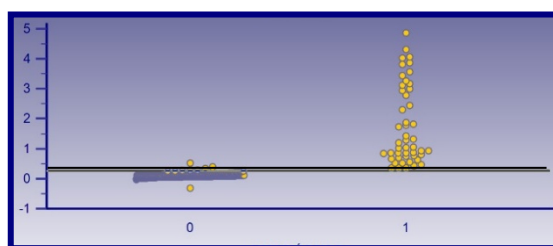
RING TRIAL (Proficiency test, ANSES)

The INgezim® West Nile IgM assay participated in two Ring Tests organized by Anses (2013 and 2020). The results that were obtained are showed below:

- **2013:** The conclusions of the final report regarding sensitivity were that INgezim® West Nile IgM kit is **more sensitive** than all the commercial assays available on the market that also participated in the Ring Test.
- **2020:** According to the final report, INgezim® West Nile IgM is **more sensitive** than another commercial assay available on the market with which it was compared.

DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY (ROC ANALYSIS)

Study 1: 14 equine sera infected by WNV, 1 SN positive reference serum, 1 WNV specific IgM positive serum, 3 equine WNV vaccinated sera positive by other commercial assays, 404 equine sera from WNV free areas and 28 field WNV infected sera from 3 outbreaks in Spain (2010-2012) and positive by another commercial ELISA were analysed. The sensitivity and specificity obtained were **higher than 99.5%**.



Study 2: 17 equine sera from a Linage 2 outbreak occurred in Italy in 2013 and previously classified as positive were analysed. INgezim® West Nile IgM detected 16 of them as positive.

KIT COMPOSITION

- 96 well microtitration plates
- Vials with Positive Control
- Vials with Negative Control
- Vials with Positive Antigen
- Vials with Negative Antigen
- Vials with Conjugate
- Bottles with Washing Solution
- Bottles with Diluent
- Bottles with Stop Solution

Spanish registration nº 2863 RD
EXPIRATION: 18 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/>