eurofins | Ingenasa

Digitally signed by Bolea Petru
Date: 2022.05.19 19:51:32 EEST
Reason: MoldSign Signature
Location: Moldova

INgezim® West Nile Compac

R.10.WNV.K.3

INgezim® West Nile Compac es un ensayo inmunoenzimático basado en la técnica ELISA de bloqueo, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de la proteína E del virus de West Nile (WNV).

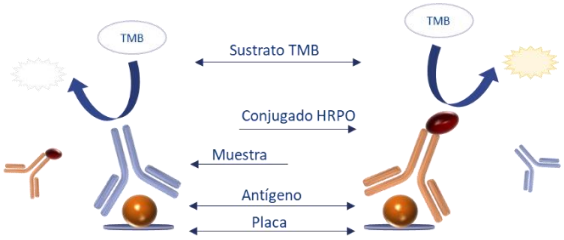
CARACTERÍSTICAS DEL KIT

APLICACIÓN

Detección de anticuerpos específicos frente a la proteína E del virus de West Nile (WNV) en muestras de suero de équidos y aves.

BASE TÉCNICA

1. Las placas se suministran tapizadas con antígeno del WNV (extracto de proteínas). Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si las muestras contienen anticuerpos específicos de WNV, estos se unirán al antígeno.
3. Cuando se añade el conjugado (anticuerpo monoclonal específico de la proteína E del WNV, marcado con peroxidasa, AcM-PO), este se unirá a la proteína solo si no hay anticuerpos de la muestra bloqueando el antígeno (animales negativos). En caso de que haya anticuerpos bloqueando el antígeno (animales positivos), el conjugado no podrá unirse a él. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de sustrato.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos cut offs, que clasificarán las muestras como ***Positivas*** o ***Negativas***, en función del valor de PI de la muestra en el ensayo, considerando un rango de PI cercanos a los cut offs como resultados ***Dudosos***.

VALIDACIÓN DEL ENSAYO

Validación con sueros de referencia

Se realizó con 3 sueros de referencia de la OIE procedentes de laboratorios de los servicios veterinarios nacionales USDA, APHIS. Los resultados obtenidos fueron los esperados.

Sensibilidad analítica

Se analizaron las muestras obtenidas de la infección experimental de 6 perdices (aislado Spain/2007), 3 perdices (aislado Marruecos/2003), 2 perdices control en contacto y 2 conejos (WNV NY99-crow). Se realizaron extracciones a días -1, 3, 6, 10, 12, 14 y 20 o 0, 15, 24, 39 y 49 post-infección a las perdices y a los conejos, respectivamente.

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 y SLEV.

Se ha detectado cross-reacción con anticuerpos específicos del virus de la Encefalitis japonesa.

Respecto a USUTU, se ha detectado cross-reacción en 1 de 13 muestras analizadas.

RING TRIAL (Proficiency test ANSES 2013, 2020)

Según se indica en el informe final, INgezim® West Nile Compac presenta **mayor sensibilidad y especificidad** en comparación con otro ensayo comercial disponible en el mercado.

Sensibilidad diagnóstica

Se analizaron sueros de 5 caballos y 25 de aves infectados de forma natural por WNV (positivos por seroneutralización (SN)).

Los resultados obtenidos indicaron que todos los sueros dieron resultado positivo. La sensibilidad diagnóstica del ensayo en este estudio fue por tanto superior al **99,9%.**

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.

La especificidad diagnóstica del ensayo para caballos fue del 96% y para aves del 98,8%. En general, el ensayo tiene una **especificidad del 98,4%.**

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 un ensayo ELISA comercial disponible en el mercado y con SN.

En comparación con el ensayo ELISA comercial, el **porcentaje de correspondencia fue del 91,6%.**

En comparación con SN, se observó una **sensibilidad superior al 99,9% y una especificidad del 86,2%.**

COMPOSICIÓN DEL KIT

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

Registro nº 1815RD

CADUCIDAD: 24 MESES. Conservado a 2ºC-8ºC

EUROFINS INGENASA, S.A
C. de los Hermanos García Noblejas 39, 8º
28037 MADRID (SPAIN)
Tel: (+34)91 3680501
www.ingenasa.com

IT-73840 IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

Ed.310322

INgezim® West Nile Compac

R.10.WNV.K.3

INgezim® West Nile Compac is an immunoenzymatic assay based on a blocking ELISA technique, which uses a monoclonal antibody (MAb) specific to West Nile Virus (WNV) E protein.

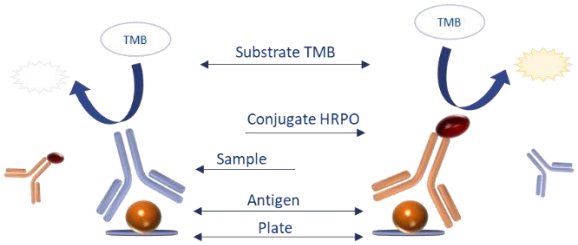
KIT FEATURES

APPLICATION

Detection of specific antibodies to West Nile Virus (WNV) E protein in serum samples from horses and birds.

TECHNICAL BASE

1. Plates are supplied coated with a semipurified extract of WNV proteins. Samples are added to the wells and incubated.
2. If the samples contain specific antibodies to WNV, they will bind to the antigen.
3. When the conjugate (monoclonal antibody specific to WNV E protein, conjugated with peroxidase, AcM-PO) 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 (positive 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.



RESULTS INTERPRETATION

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

ASSAY VALIDATION

Evaluation with reference sera

The internal validation was performed with 3 OIE reference sera from laboratories of the national veterinary services USDA, APHIS. 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. Extractions were made at days -1, 3, 6, 6, 10, 12, 14 and 20 or 0, 15, 24, 39 and 49 post-infection on partridges and rabbits, respectively.

The results obtained indicate that the assay detects specific antibodies of WNV **since day 6 post infection.**

Analytical Specificity

The assay does not show cross-reaction with specific antibodies to TBEV and SLEV.

Cross-reaction with specific antibodies to Japanese Encephalitis virus has been detected.

Regarding USUTU, cross-reaction has been detected in 1 of 13 samples analyzed.

RING TRIAL (Proficiency test ANSES 2013,2020)

According to the Final Report, INgezim® West Nile Compac showed **higher sensitivity and specificity** than another commercial assay available on the market with which it was compared.

Diagnostical sensitivity

Sera from 5 horses and 25 birds naturally infected with WNV (positive by seroneutralization (SN)) were analyzed.

Results obtained indicated that all of them were positive. The diagnostic sensitivity in this study was higher than **99.9%.**

Diagnostic specificity

86 sera from horses from Doñana, 247 sera from jackdaws, 254 sera from flamingos (all negative for SN) and 512 sera from horses collected during 2001, 2002 and 2004 in areas of Spain with no previous report of WNV seropositivity, were analyzed.

The diagnostic specificity was 96% for horses and 98% for birds. Hence, in general, the assay has **98.4% specificity**.

Comparative with other commercial kits

143 bird sera (20 positives and 123 negatives by SN) were analyzed and the results were compared with those obtained by another commercial assay available on the market. **The correspondence percentage was 91.6%.**

Compared to SN, **higher than 99.9% sensitivity and 86.2% specificity were observed.**

KIT COMPOSITION

- 96 well microtitration plates
- Vials with Positive Control
- Vials with Negative Control
- Vials with Conjugate
- Bottles with Washing Solution
- Bottles with Diluent
- Bottles with substrate (TMB)
- Bottles with Stop Solution

Spanish registration nº 1815RD

EXPIRATION: 24 MONTHS. Stored at 2ºC-8ºC

EUROFINS INGENASA, S.A
C. de los Hermanos García Noblejas 39, 8º
28037 MADRID (SPAIN)
Phone: (+34)91 3680501
www.ingenasa.com

IT-73840 IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

Ed.310322