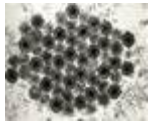
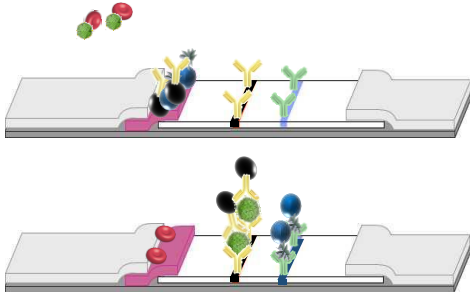


INGEZIM ASF CROM ANTIGEN

R.11.ASF.K42



INGEZIM ASF CROM Ag es un ensayo enzimático basado en la técnica Inmunocromatografía Directa, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de la proteína VP72 del virus de la Peste Porcina Africana conjugado a microsferas de latex.



BASE TÉCNICA DEL KIT

El dispositivo de diagnóstico está compuesto por una placa de plástico con una ventana que contiene un AcM específico de la proteína VP72 unido a microsferas de latex negro y otro AcM específico de la proteína control conjugado a microsferas de latex azul.

Al añadir la muestra, si contiene antígeno VP72, este se unirá al AcM específico conjugado a latex negro y migrará por la membrana. El complejo antígeno-anticuerpo-látex se unirá al anticuerpo situado en la zona test (T) dando lugar a la aparición de una línea negra. La aparición de una línea azul en la zona control (C) indica que el ensayo es válido.

APLICACIÓN

Detección de antígeno del Virus de la Peste Porcina Africana, en muestras de sangre de cerdo doméstico y jabalí.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICAS

Estudio 1. El ensayo se ha evaluado con muestras de campo y experimentales todas ellas catalogadas por rt-PCR Universal Probe Library (UPL) como "Gold Standard":

- 153 muestras (60 positivas y 93 negativas) de sangre extraída a diferentes días post infección a 30 cerdos experimentalmente infectados con diferentes genotipos (n=23, IX; n=19, Ucrania II y n=111, Lituania II)*
- 58 muestras de campo (52 positivas y 6 negativas) de cerdos domésticos y jabalíes procedentes de países afectados por la PPA durante 2014 y 2015.*
- 15 muestras (12 positivas y 3 negativas) de sangre de animales domésticos y jabalíes de áreas afectadas por genotipo II

De las 36 muestras con resultados falsos negativos, 20 eran muestras con valores de Ct por encima de 30, recogidas en estado inicial de infección o de animales en contacto con animales expuestos al aislado LT40/1490. 10 de ellas resultaron negativas por aislamiento.

Si los resultados se comparan con los obtenidos por INgezim® PPA DAS (ELISA de detección de antígeno) el coeficiente κ fue 0,92 lo cual indica una correlación casi perfecta entre ambas técnicas)

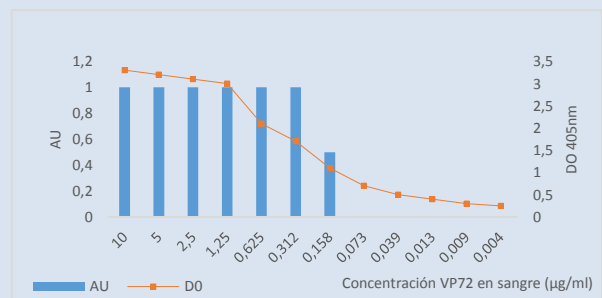
Estudio 2. El ensayo ha sido evaluado con 42 (37 positivas y 5 negativas) muestras de campo en el Friedrich Loeffler Institute (FLI), todas ellas catalogadas previamente por rt-PCR. El ensayo detectó 39 muestras positivas y 3 negativas.

De ambos estudios se concluye que la sensibilidad del ensayo respecto a la técnica rt-PCR fue del 76% y la especificidad del 96%.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Para determinar la sensibilidad analítica del ensayo, se utilizaron muestras de sangre negativas contaminadas con la proteína recombinante VP72 o con virus inactivado de la cepa BA71. Se realizaron diluciones seriadas de ambas matrices y se determinó la capacidad de detección para cada una de ellas tanto por INgezim® ASFV CROM Ag como por INgezim® PPA DAS.

El ensayo es capaz de detectar 3ng/test de VP72 purificada y por debajo de 10^4 ufp/ml del aislado viral.



Todos los estudios han sido realizados dentro del marco del Proyecto ASFORCE con la colaboración del CISA-INIA.

*Sastre et al (2016) Development of a novel LFA for detection of African swine fever in blood. Vet. Research, 12:206

COMPOSICION DEL KIT

- Dispositivos de cromatografía
- Viales con Diluyente.



PRODUCTO FABRICADO POR INGENASA



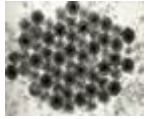
CADUCIDAD: **24 meses**
Conservado a 4°C-25°C

Ed.141117

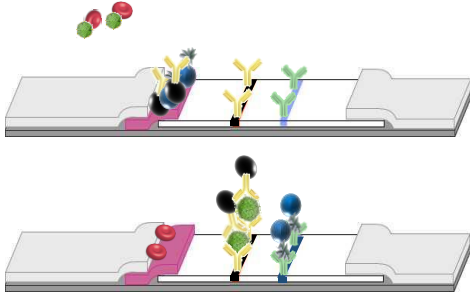
INGENASA

INGEZIM ASFV CROM ANTIGEN

R.11.ASF.K42



INGEZIM ASF CROM Ag is an enzymatic assay based on a direct immunochromatographic technique in which a monoclonal antibody (MAb) specific of VP72 of African Swine Fever virus (ASFV) conjugated with latex microspheres is used.



TECHNICAL BASIS

This diagnostic device consists on a plastic plate containing a membrane. On the membrane, two lines are printed: the test line (T) has a specific MAb to ASFV and the control line (C) has a specific MAb for the control protein.

If the case of a positive sample, the virus binds to the black beads conjugated to the anti-ASFV MAb. The immune complex then migrates through the membrane by capillarity and is captured again by the anti-ASFV MAb absorbed on the test line, resulting in the appearance of a black line. The presence of the control line serves as validity of the test, indicating that the immunochromatography has been performed correctly.

APPLICATION

Detection of African Swine Fever Virus (antigen) in blood samples of domestic pigs and wild boars.

DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

Study 1. This assay was evaluated with field and experimental samples all of them previously classified by rt-PCR Universal Probe Library (UPL) as "Gold Standard":

- 153 blood samples (60 positive & 93 negative) of 30 pigs. These pigs were experimentally infected with different genotypes (n=23, IX; n=19, Ucrania II y n=111, Lituania II)* and bled at different days post infection.
- 58 field samples (52 positive y 6 negative) of domestic pigs and wild boards from ASF affected countries during 2014 and 2015.*
- 15 blood samples (12 positive y 3 negative) of domestic pigs and wild boars from areas affected with genotype II

36 samples gave false negative results. 20 of these samples gave Ct values higher than 30 and were samples taken off at early states of infection or corresponded to animals in contact with LY40/1490 isolate exposed animals. 10 of these 20 samples showed negative results by isolation.

Comparing the results with the obtained by INgezim® PPA DAS (Ag detection ELISA) the coefficient κ was 0.92, indicating a perfect coincidence between both techniques.

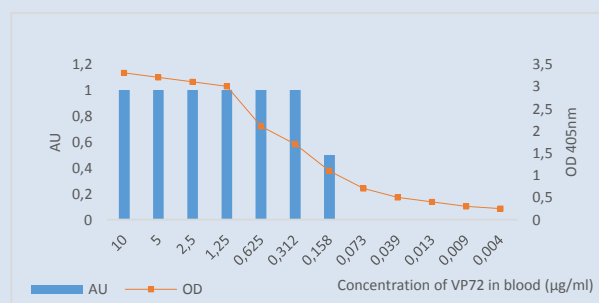
Study 2. The assay was evaluated with 42 (37 positive y 5 negative) field samples at Friedrich Loeffler Institute (FLI), all of them previously characterized by rt-PCR. INgezim® ASF CROM Ag detected 39 positive samples and 3 negative ones.

From both studies it can be concluded that the sensitivity of the assay respect to rt-PCR was 76% and the specificity 96%.

ANALYTICAL SENSITIVITY

To determine the analytical sensitivity, blood negative samples contaminated with recombinant vp72 or with inactivated virus (strain BA71) were used. Serial dilutions of both kind of matrixes were made and the ability of detection were tested in comparison with INgezim® PPA DAS.

INGEZIM ASF CROM Ag was able to detect 3ng/test of recombinant purified VP72 and less than 10⁴ ufp/ml of viral isolate.



All these studies has been made within the frame of the project ASFORCE in collaboration with CISA-INIA.

*Sastre et al (2016) Development of a novel LFA for detection of African swine fever in blood. *Vet. Research*, 12:206

COMPOSITION OF THE KIT

- Chromatographic devices
- Vials with diluent



PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA



SHELF LIFE: **24 months**
Stored at 4°C-25°C

Ed.141117