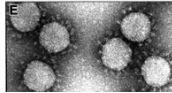
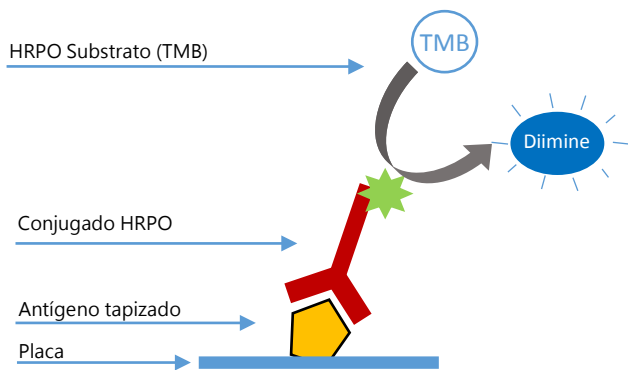


INgezim CORONA DIFERENCIAL 2.0

R.11.DIF.K3



INgezim Corona Diferencial es un ensayo enzimático basado en la técnica ELISA de captura / bloqueo que utiliza como conjugados un anticuerpo monoclonal (AcM) específico del sitio B (epítipo genérico de coronavirus) de la proteína S del virus de la Gastroenteritis Transmisible (TGEV) y otro AcM específico del sitio Ac de la misma (epítipo específico de TGEV)¹. Adicionalmente se utiliza un AcM específico de la proteína S como anticuerpo de captura.



BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se proporcionan tapizadas con la proteína S recombinante del TGEV capturada por un AcM específico. Cada muestra de suero se añade a dos pocillos antigenados y se incuba.
2. Si las muestras contienen anticuerpos frente al Coronavirus Respiratorio Porcino (PRCV), éstos se unirán sólo a los epítipos genéricos de coronavirus; si contiene anticuerpos específicos frente a la Gastroenteritis Transmisible (TGEV), ocuparán todos los epítipos presentes en ambos pocillos.
3. Cuando se añaden los dos tipos de AcM-PO¹ (específico frente a epítipos comunes y frente al exclusivo, respectivamente) cada uno a un pocillo, estos se unirán a los epítipos que hayan quedado libres. Tras la adición de sustrato, se observará reacción coloreada allí donde los conjugados hayan encontrado epítipos específicos sin ocupar.

APLICACIÓN

Detección y diferenciación de anticuerpos específicos frente a los coronavirus porcinos, TGEV y PRCV, en muestras de suero porcino ensayado individualmente. El ensayo es una herramienta muy eficaz en la prevención de la aparición de un brote de TGEV.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece tres Cut Off: positivo/negativo para Coronavirus, positivo para TGEV y negativo para TGEV/ positivo a PRCV. La combinación de los tres cut off permite diferenciar entre: Muestras positivas para TGEV, Muestras positivas para PRCV y Muestras negativas a coronavirus.

VALIDACIÓN

EVALUACIÓN EXTERNA

Se realizó un ensayo con 411 muestras divididas en 4 grupos:

- 94 muestras de 16 granjas serológicamente negativas a PRCV y a TGEV.
- 124 muestras de 21 granjas serológicamente positivas a PRCV.
- 122 muestras de 17 granjas serológicamente positivas a TGEV.
- 71 muestras de 22 casos diagnosticados.

Los resultados indicaron una **sensibilidad del 94%** y una **especificidad del 98,2%**.

EVALUACIÓN INTERNA

Comparativa con ELISA que utiliza como tapizado el virus completo.

Se analizaron 665 sueros comparando los resultados obtenidos por ambos ensayos

		INgezim CORONA DIFERENCIAL				
		PRVC	TGEV	NEGATIVO	DUDOSO	TOTAL
ELISA DE COMPETICIÓN	PRCV	498			5	503
	TGEV	1	31		1	33
	NEAGATIVO	10		112		123
	DUDOSO	6				6
	TOTAL	516	31	112	6	665

Los sueros con resultados discrepantes mostraron valores de DO cercanos al Cut Off en el ELISA de competición cuyo tapizado es virus completo. El uso de INgezim Corona Diferencial, permite detectar los anticuerpos específicos de TGEV eliminando posibles falsos positivos.

¹AcM Desarrollados en el Laboratorio del Dr. Luis Enjuanes (CNB, Madrid). Carlos M. Sánchez et al. Antigenic Homology among Coronavirus Related Transmissible Gastroenteritis Virus. Virology 174, 410-417 (1990)

COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos.
- Viales con Control Positivo para PRCV
- Viales con Control Positivo para TGEV
- Viales con Control Negativo para Coronavirus Porcino
- Viales con Conjugado de Peroxidasa A (TGEV+PRCV)
- Viales con Conjugado de Peroxidasa B (TGEV)
- Frasco con Solución de Lavado concentrado
- Frasco con Diluyente.
- Frasco con Substrato (TMB) listo para usar.
- Frasco con Solución de Frenado.



PRODUCTO FABRICADO POR INGENASA
Nº REGISTRO 1813 RD

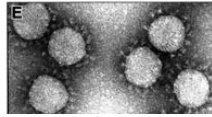


CADUCIDAD: **18 meses**
Conservado a 2-8°C

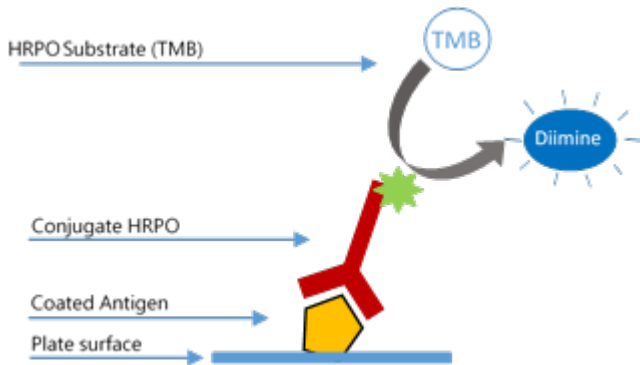
Ed. 020217

INgezim CORONA DIFERENCIAL 2.0

R.11.DIF.K3



INgezim Differential Coronavirus is based on an enzymatic immunoassay (Capture Blocking ELISA) which uses as conjugates two specific monoclonal antibodies (MAb); one specific to site B of coronavirus S protein (generic epitope of coronavirus) and the other one specific to site Ac of TGEV S protein (specific epitope of TGEV)¹. A third MAb is used as a capture reagent of the S protein.



TECHNICAL BASIS OF THE KIT

1. Plates are coated with recombinant S protein of TGEV which is captured by a specific monoclonal antibody. Each serum sample must be added to two wells.
2. If the serum sample contains specific antibodies to the Porcine Respiratory Coronavirus (PRCV), they will only bind to the generic epitopes, but if it contains specific antibodies to the Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV), they will bind to all of the epitopes present.
3. After an incubation period, a coronavirus specific monoclonal antibody-HRPO¹ (Conjugate A) must be added to one well and a specific TGEV Mab-HRPO (Conjugate B) to the other one. They will only bind to free epitopes. The presence or absence of the labeled Mab can be detected by adding a substrate which, in presence of the peroxidase, will develop a colorimetric reaction.

APPLICATION

Detection and differentiation of Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV) and Porcine Respiratory Coronavirus (PRCV) specific antibodies in porcine sera samples. There is no interference with any other porcine coronaviruses.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

Three cut off are used for the results interpretation: positive/negative to coronavirus, positive to TGEV and negative to TGEV/positive PRCV.

The combination of these three Cut Offs allows differentiating between TGEV positive samples, PRCV positive samples and Coronavirus negative samples.

VALIDATION

EXTERNAL EVALUATION

A study with 411 samples, divided into 4 groups, was made:

- 94 samples from 16 herds serologically negative to PRCV and TGEV.
- 124 samples from 21 herds serologically positive to PRCV.
- 122 samples from 17 herds serologically positive to TGEV
- 71 samples from 22 diagnostic cases

The results obtained indicated **94% sensitivity** and **98.2% specificity**.

INTERNAL EVALUATION

Comparison with an ELISA that uses complete TGEV virus as antigen instead of recombinant S protein.

A set of 665 sera were analyzed and the results obtained in both assays were compared.

		INgezim DIFFERENTIAL CORONAVIRUS				
		PRVC	TGEV	NEGATIVE	DOUBTFUL	TOTAL
COMPETITI ON ELISA	PRCV	498			5	503
	TGEV	1	31		1	33
	NEGATIVE	10		112		123
	DOUBTFUL	6				6
	TOTAL	516	31	112	6	665

Those samples with discrepant results showed OD values close to the cut off when in the ELISA that used complete virus as antigen. The use of recombinant protein as antigen allows the detection of specific antibodies to TGEV, avoiding false positive animals.

¹Developed in the Laboratory of Dr. Luis Enjuanes (CNB, Madrid). Carlos M. Sánchez et al. Antigenic Homology among Coronavirus related Transmissible Gastroenteritis Virus. Virology 174, 410-417.

COMPOSITION OF THE KIT

- Microtitration plates of 96 wells.
- Vials with Positive Control for PRCV
- Vials with Positive Control for TGEV
- Vials with Negative Control for Porcine Coronavirus
- Vials with Peroxidase Conjugate A (TGEV+PRCV)
- Vials with Peroxidase Conjugate B (TGEV)
- Bottle with Washing Solution
- Bottle with diluent
- Bottle with stop solution
- Bottle with substrate (TMB) ready to use



PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA
REGISTRATION NUMBER 1813 RD



IT-73840 ISO 14001:2015 ISO 9001:2015
IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

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

Ed. 020217