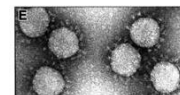
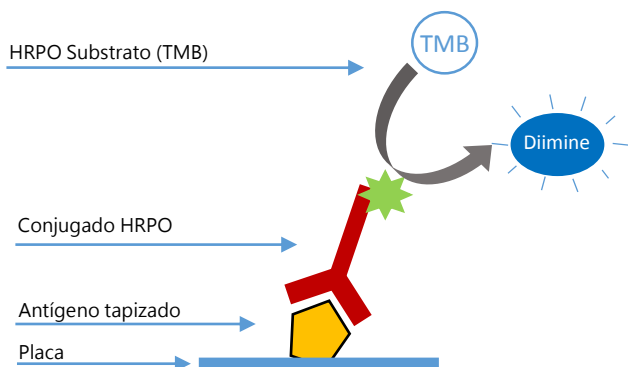


## INgezim® TGEV 2.0

R.11.TGE.K3



**INgezim® TGEV 2.0** es un ensayo enzimático basado en la técnica ELISA de captura / bloqueo que utiliza como conjugado un anticuerpo monoclonal (AcM) específico del sitio Ac de la proteína S del virus de la gastroenteritis transmisible porcina (TGEV) (epítipo específico de TGEV)<sup>1</sup>. 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 al pocillo antigenado y se incuba.
2. Si contiene anticuerpos específicos frente a la Gastroenteritis Transmisible (TGEV), ocuparán todos los epítipos presentes en el pocillo.
3. Cuando se añade el AcM-PO<sup>1</sup>, este se unirá a los epítipos que hayan quedado libres. Tras la adición de sustrato, se observará reacción coloreada allí donde el conjugado haya encontrado epítipos específicos sin ocupar.

### APLICACIÓN

Detección de anticuerpos específicos frente a TGEV, 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. No existe cross reacción frente a Ac específicos de otros coronavirus porcinos.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos Cut Off: positivo para TGEV y negativo para TGEV.

### EVALUACIÓN EXTERNA

#### Comparativa con seroneutralización (SN).

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%**.

#### Sensibilidad analítica<sup>2</sup>

Se analizaron muestras de 30 lechones recogidas a días 0, 4, 7, 11, 14 y 18 post infección. Los resultados obtenidos indicaron que el ensayo es capaz de detectar anticuerpos a partir del día 14 p.i. dependiendo del animal.

### VALIDACIÓN

#### EVALUACIÓN INTERNA

Comparativa con ELISA que utiliza como tapizado el virus completo.

Se analizaron 665 sueros comparando los resultados obtenidos por ambos ensayos

		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

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 la proteína recombinante como tapizado permite optimizar la detección de anticuerpos específicos de TGEV.

<sup>1</sup>AcM 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)

<sup>2</sup>Chai et al. BMC Veterinary Research 2014, 10:75

### COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos.
- Viales con Control Positivo para TGEV
- Viales con Control Negativo para Coronavirus Porcino
- Viales con Conjugado de Peroxidasa específico de 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 10477 RD



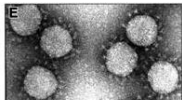
IT-73840 ISO 14001:2015 ISO 9001:2015  
IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

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

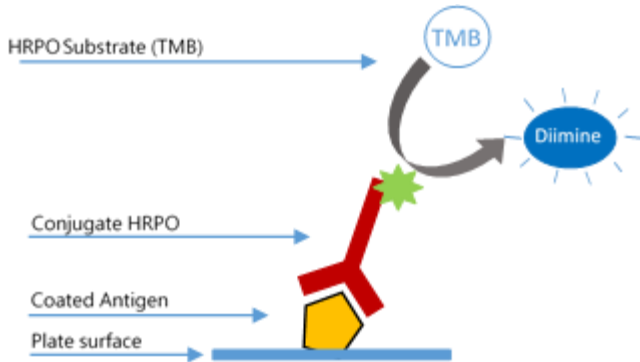
Ed.010818

## INgezim® TGEV 2.0

R.11.TGE.K3



**INgezim® TGEV** is based on an enzymatic immunoassay (Capture Blocking ELISA) which uses as conjugate a monoclonal antibody (MAb) specific to site Ac of TGEV S protein (specific epitope of TGEV)<sup>1</sup>. An additional 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 the well.
2. If the serum sample contains specific antibodies to the Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV), they will bind to all of the epitopes present.
3. After an incubation period, a specific TGEV Mab-HRPO (Conjugate B) is added to the wells. 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 of Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV) specific antibodies in porcine serum samples. There is no interference with any other porcine coronaviruses.

### INTERPRETATION OF THE RESULTS

Two cut off are used for the results interpretation: positive & negative to TGEV.

### VALIDATION

#### EXTERNAL EVALUATION

##### Comparison with seroneutralization (SN).

- 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**.

##### Analytical sensitivity<sup>2</sup>.

Samples of 30 piglets taken off at days 0, 4, 7, 11, 14 & 18 p.i. were analyzed. Results obtained indicate that the assay is able to detect antibodies specific of TGEV since day 14p.i. depending on the animal studied.

#### 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
COMPETITIVE 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.

<sup>1</sup>Developed 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.

<sup>2</sup>Chai et al. BMC Veterinary Research 2014, 10:75

### COMPOSITION OF THE KIT

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



PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA  
REGISTRATION NUMBER 10477 RD



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

Ed.010818