

# INgezim® ASFV CROM Ag

R.11.ASF.K.42

INgezim® ASFV CROM Ag es un ensayo enzimático basado en la técnica de Inmunocromatografía Directa, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de la proteína VP72 del virus de la Peste Porcina Africana conjugado a microesferas de látex.

## CARACTERÍSTICAS DEL KIT

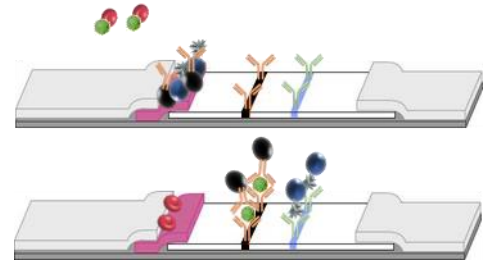
### APLICACIÓN

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

### BASE TÉCNICA

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 microesferas de látex negro y otro AcM específico de la proteína control conjugado a microesferas de látex azul.

Al añadir la muestra, si contiene antígeno VP72, este se unirá al AcM específico conjugado a látex 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.



## VALIDACIÓN DEL ENSAYO

### 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.

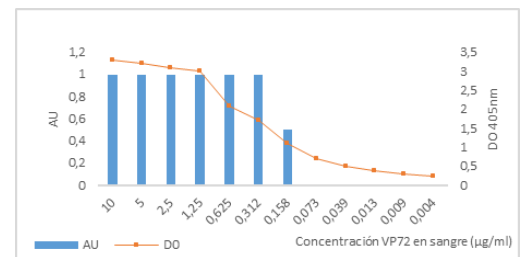
De ambos estudios se concluye que la sensibilidad del ensayo respecto a la técnica rt-PCR fue del 76% y la especificidad del 96%.

### 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<sup>4</sup> 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



Registro nº 10671-RD

CADUCIDAD: 24 MESES. Conservado a 4°C-25°C

EUROFINS-INGENASA, S.A.

Avda. de la Institución Libre de Enseñanza 39, 8º

28037 MADRID (SPAIN)

Tel: (+34)91 3680501

[www.ingenasa.com](http://www.ingenasa.com)



IT-73840  
IT-73780

9191.INGE

9175.INGE

# INgezim® ASFV CROM Ag

R.11.ASF.K.42

INgezim® ASFV CROM Ag est un test enzymatique basé sur la technique d'immunochromatographie directe, utilisant un anticorps monoclonal (mAb) spécifique de la protéine Vp72 du virus de la peste porcine africaine, conjugué à des microsphères de latex.

## CARACTÉRISTIQUES DU KIT

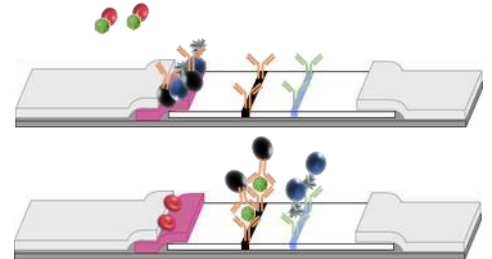
### APPLICATION

Détection de l'antigène du virus de la peste porcine africaine dans des échantillons de sang de porcs domestiques et de sangliers.

### BASE TECHNIQUE

Le dispositif de diagnostic consiste en une plaque en plastique avec une fenêtre contenant un AcM spécifique de la protéine VP72 conjugué à des billes de latex noires et un AcM témoin spécifique de la protéine conjugué à des billes de latex bleues.

Lors de l'ajout de l'échantillon, si celui-ci contient l'antigène VP72, il se fixera à l'AcM spécifique conjugué au latex noir et migrera à travers la membrane. Le complexe antigène-anticorps-latex se lie à l'anticorps dans la zone de test (T), ce qui entraîne l'apparition d'une ligne noire. L'apparition d'une ligne bleue dans la zone de contrôle (C) indique que le test est valide.



## VALIDATION D'ESSAI

### LA SENSIBILITÉ ET LA SPÉCIFICITÉ DU DIAGNOSTIC

**Étude 1.** Ce test a été évalué avec des échantillons de terrain et expérimentaux, tous préalablement classés par la bibliothèque universelle de sondes rt-PCR (UPL) comme "Gold Standard" :

- 153 échantillons de sang (60 positifs et 93 négatifs) de 30 porcs. Ces porcs ont été infectés expérimentalement avec différents génotypes (n=23, IX ; n=19, Ucraina II y n=111, Lituanía II)\* et saignés à différents jours après l'infection.
- 58 échantillons de terrain (52 positifs et 6 négatifs) de porcs domestiques et de planches sauvages provenant de pays touchés par la peste porcine africaine en 2014 et 2015\*.
- 15 échantillons de sang (12 positifs y 3 négatifs) de porcs domestiques et de sangliers sauvages provenant de zones affectées par le génotype II.

36 échantillons ont donné des résultats faussement négatifs. 20 de ces échantillons ont donné des valeurs Ct supérieures à 30 et étaient des échantillons prélevés à des stades précoces de l'infection ou correspondaient à des animaux en contact avec des animaux exposés à l'isolat LY40/1490. 10 de ces 20 échantillons ont donné des résultats négatifs par isolement. En comparant les résultats avec ceux obtenus par INgezim® PPA DAS (Ag détection ELISA) le coefficient  $\kappa$  était de 0,92, indiquant une parfaite coïncidence entre les deux techniques.

**Étude 2.** Le test a été évalué avec 42 (37 positifs et 5 négatifs) échantillons de terrain à l'Institut Friedrich Loeffler (FLI), tous préalablement caractérisés par rt-PCR. INgezim® ASF CROM Ag a détecté 39 échantillons positifs et 3 négatifs.

Les deux études ont permis de conclure que la sensibilité du test par rapport à la rt-PCR était de 76% et la spécificité de 96%.

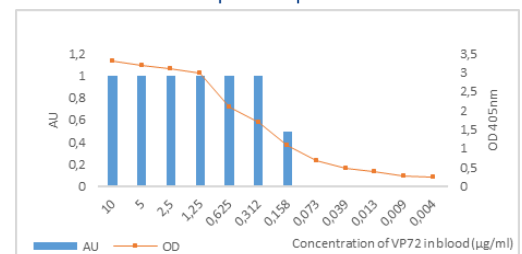
### SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

Pour déterminer la sensibilité analytique, des échantillons de sang négatifs contaminés par le virus recombinant vp72 ou par le virus inactivé (souche BA71) ont été utilisés. Des dilutions sérielles des deux types de matrices ont été réalisées et la capacité de détection a été testée en comparaison avec INgezim® PPA DAS.

**INgezim® ASF CROM Ag a été capable de détecter 3ng/test de VP72 recombinant purifié et moins de 104 ufp/ml d'isolat viral.**

Toutes ces études ont été réalisées dans le cadre du projet ASFORCE en collaboration avec CISA-INIA.

\*Sastre et al (2016) Development of a novel LFA for detection of African swine fever in blood. Vet. Research, 12.206



### COMPOSITION DU KIT

- Dispositifs chromatographiques
- Flacons avec diluant



Immatriation espagnole n° 10671-RD

EXPIRATION: 24 MOIS. Conserver a 4°C-25°C

EUROFINS-INGENASA, S.A.

Avda. de la Institución Libre de Enseñanza 39, 8º

28037 MADRID (SPAIN)

Phone: (+34)91 3680501

[www.ingenasa.com](http://www.ingenasa.com)



IT-73840  
IT-73780

9191.INGE

9175.ING2