

INgezim PEA DAS

R.14.PEA.K2



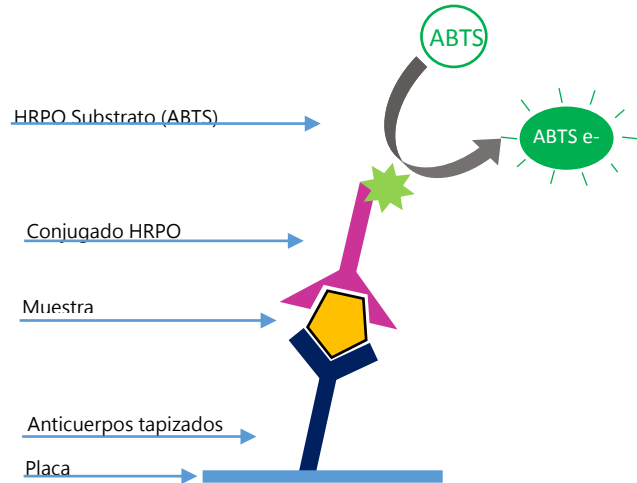
INgezim PEA DAS está basado en la técnica ELISA de Doble Anticuerpo (DAS) en la que se utilizan anticuerpos específicos de la proteína VP7 del Virus de la Peste Equina Africana (VPEA).

BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se suministran tapizadas con un anticuerpo específico de la proteína VP7 del VPEA. Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si las muestras contienen el antígeno, éste se unirá al anticuerpo que se encuentra tapizando la placa.
3. Cuando se añade anticuerpo (marcado con biotina) específico de la proteína VP7 del VPEA, éste se unirá al antígeno capturado por los anticuerpos que tapizan la placa.
4. En un segundo paso de amplificación se añade Estreptavidina-Peroxidasa, la cual se unirá a la biotina. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de sustrato.

APLICACIÓN

Detección del Virus de la Peste Equina Africana (VPEA) en muestras de bazo de caballo



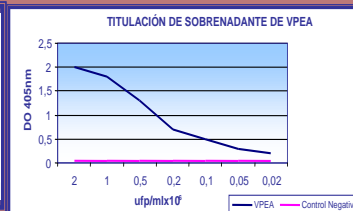
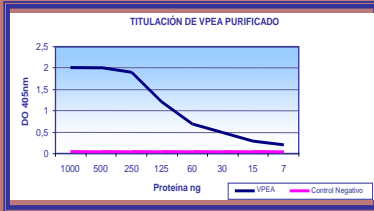
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos cut off. Las muestras con valores de DO superiores al cut off positivo se consideran **Positivas**; con valores de DO inferiores al cut off negativo se consideran **Negativas** y con valores de DO entre ambos cut offs se consideran **Dudosas**.

VALIDACIÓN INTERNA

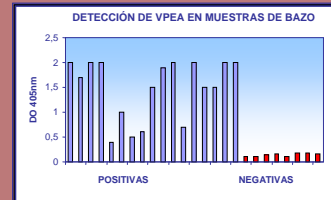
1. Uso de muestras de cultivo de VPEA

La sensibilidad del ensayo es de **15 ng ó 5×10^4 ufc/ml** con muestras de virus purificado y de sobrenadante de cultivo.



2. Ensayos de campo

Se analizó un panel de 91 muestras de bazo de caballo procedentes de zonas con focos de infección y de zonas libres previamente caracterizadas por aislamiento. Estos resultados indicaron que la correspondencia entre ambas técnicas era del **93%**.



VALIDACIÓN EXTERNA

El ensayo ha sido evaluado en el "Animal Health Laboratory of Maisons-Alfort" respecto a su sensibilidad analítica. En el estudio se concluye que INGEZIM PEA DAS es capaz de detectar los 9 serotipos identificados del virus de la PEA y que detecta carga viral en tejido o sobrenadante a partir de 10^3 TCID₅₀/ml.

COMPOSICIÓN DEL KIT

- Placa de microtitulación de 96 pocillos.
- Vial con Control Positivo
- Vial con Control Negativo
- Vial con Conjugado-Biotina
- Vial con Estreptavidina-HRPO
- Frasco con Solución de Lavado
- Frasco con Diluyente.
- Frasco con Substrato (ABTS).
- Frasco con Solución de Frenado.
- Frasco con Tampón sustrato.

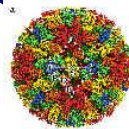


PRODUCTO FABRICADO POR INGENASA
REGISTRADO EN ESPAÑA 0427 RD



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

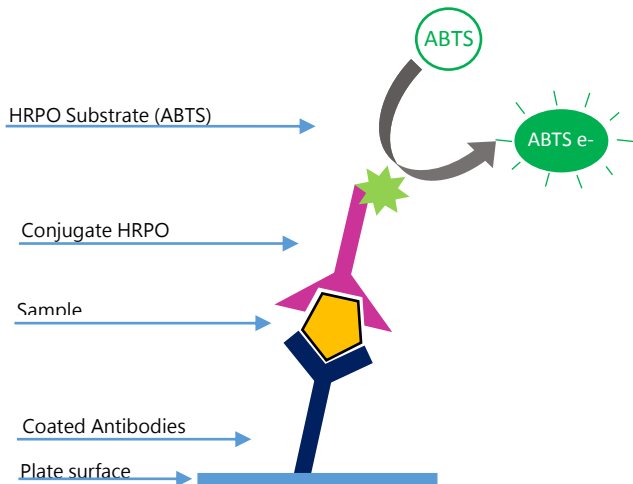
Ed.250117



INgezim PEA DAS

R.14.PEA.K2

INgezim PEA DAS is based on a Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA technique, which uses specific antibodies to African Horse Sickness Virus (AHSV) VP7 protein.



TECHNICAL BASIS OF THE KIT

1. Plates are coated with specific antibodies for VP7 protein of AHSV. Samples are added and incubated.
2. If the samples contain the antigen, they will bind to the specific antibodies for the VP7 protein coating the plates.
3. When antibodies (labelled with biotin) specific to VP7 protein of AHSV are added, they will bind to the antigen previously bound to the antibodies coating the plate.
4. In a second amplification step, Streptavidin-Peroxidase is added, which will bind to the biotin. Binding is detected by the development of a colorimetric reaction after the addition of the substrate.

APPLICATION

Detection of African Horse Sickness Virus (AHSV) in spleen samples

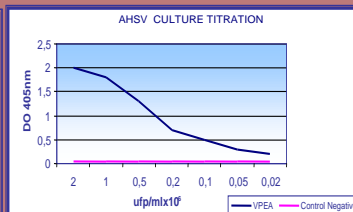
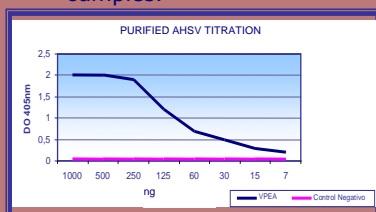
INTERPRETATION OF THE RESULTS

Two cut offs are used for the results interpretation. Samples are considered **Positive** if their OD value is higher than the positive cut off; **Negative** if their OD value is lower than the negative cut off and **Doubtful**, if show an OD value within both cut offs.

INTERNAL VALIDATION

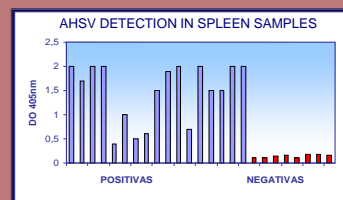
1. Use of culture samples of AHSV

The sensitivity of the assay is **15ng or 5×10^4 UFP/ ml** for purified AHSV and supernatant of AHSV infected cells samples.



2. Field trials

A panel of 91 equine spleen samples obtained from areas in which an outbreak appeared and from AHSV free areas were analyzed. Samples were previously classified by virus isolation. These results indicated that the correlation between both techniques was **93%**.



EXTERNAL VALIDATION

The assay has been evaluated in the Animal Health Laboratory of Maisons-Alfort concerning analytical sensitivity. The conclusions of the study indicated that INGEZIM PEA DAS is suitable for the identification of the nine serotypes of AHSV, provided that the viral load in tissues or culture supernatants exceed 10^3 TCID₅₀/ml.

COMPOSITION OF THE KIT

- Microtitration plate of 96 wells
- Vial with Positive Control
- Vial with Negative Control
- Vial with Biotin Conjugate
- Vial with Streptavidine-HRPO
- Bottle with Washing Solution
- Bottle with diluent
- Bottle with substrate (ABTS)
- Bottle with stop solution
- Bottle with Substrate Buffer



PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA
REGISTERED IN SPAIN 0427-RD



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

Ed.250117