

# INgezim® PPA DAS 2.0

R.11.PPA.K2

INgezim® PPA DAS 2.0 es un ensayo enzimático basado en la técnica ELISA de doble anticuerpo, en el que se utilizan anticuerpos monoclonales (AcM) específicos de la proteína VP72 del Virus de la Peste Porcina Africana (VPPA).

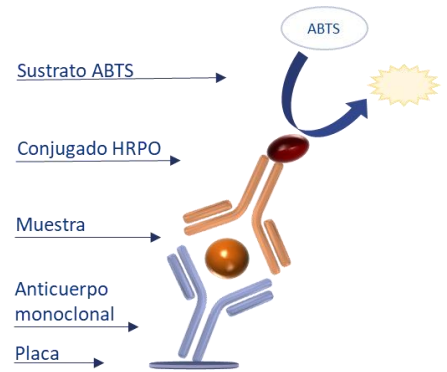
## CARACTERÍSTICAS DEL KIT

### APLICACIÓN

Detección del Virus de la Peste Porcina Africana (VPPA), en muestras de sangre completa, cultivo celular y bazo.

### BASE TÉCNICA

1. Las placas se suministran tapizadas con anticuerpos (anticuerpo específico de la proteína VP72 de VPPA). Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si las muestras contienen antígeno, este se unirá al anticuerpo específico de la proteína VP72 que se encuentra tapizado en la placa.
3. Cuando se añade el conjugado (anticuerpo monoclonal específico de un epítipo diferente de la proteína VP72, marcado con peroxidasa, AcM-PO), este se unirá al antígeno capturado por los anticuerpos que tapizan la placa. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de sustrato.



### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos cut off, que clasificarán las muestras como *Positivas* o *Negativas*, en función del valor de la densidad óptica de la muestra en el ensayo, considerando un rango de densidades ópticas cercanas a los cut off como resultados *Dudosos*.

## VALIDACIÓN DEL ENSAYO

### LÍMITE DE DETECCIÓN

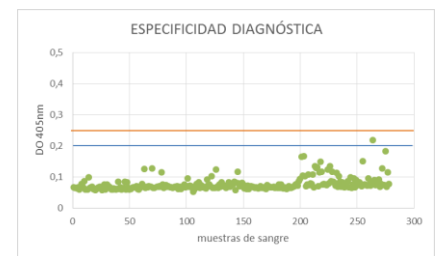
Se titularon diferentes cantidades de u.f.p./ml (unidades formadoras de placa/ml) de inóculo de VPPA. Los resultados obtenidos indicaron que el ensayo es capaz de detectar 5x10<sup>4</sup> u.f.p./mL de VPPA.

### MUESTRAS DE BAZO

- **Especificidad diagnóstica.** Se analizó un panel de muestras de bazo de animales no infectados. El ensayo clasificó el 100% de estas muestras como negativas.
- **Sensibilidad diagnóstica.** Se analizó un panel de muestras de bazo de animales infectados. El ensayo clasificó el 100% de estas muestras como positivas.

### MUESTRAS DE SANGRE COMPLETA

- **Sensibilidad analítica.** Se han analizado muestras de sangre de animales infectados experimentalmente. El ensayo es capaz de detectar antígeno en sangre a día 7 p.i.
- **Detección de diferentes aislados.** Se analizaron muestras de animales infectados con diferentes aislados de VPPA de genotipos I, II, IX y X. El ensayo es capaz de detectar todos los aislados analizados.
- **Especificidad diagnóstica.**
  - **Estudio interno.** Se analizaron 278 muestras procedentes de territorio español (país libre de VPPA), todas ellas fueron además contrastadas frente a INgezim® ASFV CROM Ag. Los resultados obtenidos indicaron 99,6% especificidad.
  - **Estudio externo.** Realizado por el laboratorio del CISA-INIA. Se analizaron 33 muestras de sangre negativas PCR-UPL y por aislamiento. Los resultados indicaron un 97% de especificidad respecto a PCR-UPL y aislamiento.
- **Sensibilidad diagnóstica. Estudio externo.** El laboratorio de Referencia de la UE (CISA-INIA) realizó un estudio utilizando 146 muestras de sangre procedentes de animales experimentalmente infectados con diferentes aislados y positivas por UPL-PCR. La sensibilidad con respecto a UPL-PCR depende del grado de positividad de la muestra. Para Ct < 20% se obtuvo un 98% de sensibilidad respecto a UPL-PCR, para Ct ≥ 20 < 25 se obtuvo un 62% de sensibilidad respecto a UPL-PCR.



## COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos
- Viales con Control Positivo
- Viales con Control Negativo
- Viales con Conjugado
- Frasco con Solución de Lavado
- Frasco con Diluyente
- Frasco con Sustrato (ABTS)
- Frasco con Solución de Frenado



Registro nº 3465RD

CADUCIDAD: 18 MESES. Conservado a 2°C-8°C

**Eurofins-INGENASA**

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.ING2

# INgezim® PPA DAS 2.0

R.11.PPA.K2

INgezim® PPA DAS 2.0 is an enzymatic assay based on the Double Antibody ELISA technique, which uses monoclonal antibodies (Mab) specific to the African Swine Fever Virus (ASFV) VP72 protein.

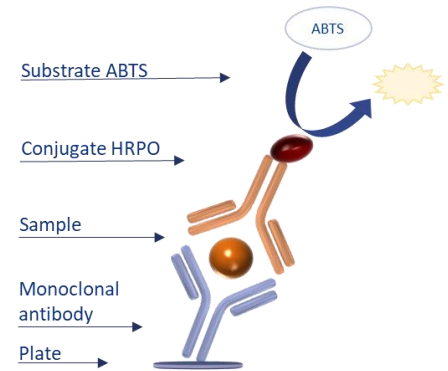
## KIT FEATURES

### APPLICATION

Detection of African Swine Fever Virus (ASFV) in whole blood, cellular culture and spleen samples.

### TECHNICAL BASE

1. Plates are supplied coated with antibody (monoclonal antibody specific to the VP72 protein of ASFV). Samples are added to the wells and incubated.
2. If the samples contain antigens, they will bind to the specific antibodies for the VP72 protein which are coated in the plates.
3. When the conjugate (monoclonal antibody specific to a different epitope of VP72, conjugated with peroxidase, AcM-PO) is added, it will bind to the antigen bound to the antibodies coated to the plate. This binding is revealed by colorimetric reaction after addition of the substrate.



### RESULTS INTERPRETATION

The assay establishes two cut offs, which will classify the samples as *Positive* or *Negative*, depending on the value of the optical density of the sample in the assay, considering a range of optical densities close to the cut offs as *Doubtful* results.

## ASSAY VALIDATION

### DETECTION LIMIT

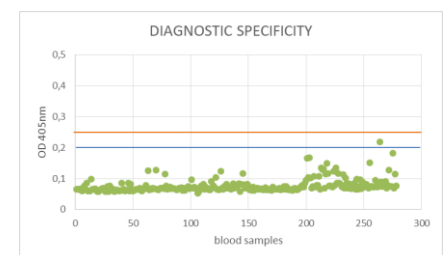
Different amounts of u.f.p./ml (plate forming units/ml) OF ASFV inoculum were titrated. The obtained results indicated that the assay is capable of detecting 5x10<sup>4</sup> u.f.p./ml of ASFV.

### SPLEEN SAMPLES

- **Diagnostic Specificity.** A panel of spleen samples from uninfected animals was analysed. The assay classified 100% of these samples as negative.
- **Diagnostic Sensitivity.** A panel of spleen samples from infected animals was analysed. The assay classified 100% of these samples as positive.

### WHOLE BLOOD SAMPLES

- **Analytical Sensitivity.** Whole blood samples from 4 experimentally inoculated animals were analysed. The obtained results indicated that the assay can detect ASFV antigen from day 7 post-infection.
- **Detection of different isolates.** Samples of animals infected with different ASFV isolates belonging to genotypes I, II, IX & X were studied. The assay can detect all isolates analysed.
- **Diagnostic Specificity.**
  - **Internal study.** 278 negative samples from Spain (ASFV free country) were analysed. All of them were also analysed by INgezim® ASFV CROM Ag, confirming their negative status. The obtained results indicated 99.6% specificity.
  - **External study.** 33 blood samples negative by PCR-UPL and isolation were analysed. The obtained results indicated 97% specificity with respect to PCR-UPL and isolation in this study.
- **Diagnostic Sensitivity. External study.** The EU Reference Laboratory (CISA-INIA) carried out a study using 146 blood samples from animals experimentally infected with different isolates and positive by UPL-PCR. The sensitivity with respect to UPL-PCR depends on the degree of positivity of the sample. For Ct < 20%, 98% sensitivity was obtained with respect to UPL-PCR, for Ct ≥ 20 < 25, 62% sensitivity was obtained with respect to UPL-PCR.



## KIT COMPOSITION

- 96 well microtitration plates
- Vials with Positive Control
- Vials with Negative Control
- Vials with Conjugate
- Bottles with Washing Solution
- Bottles with Diluent
- Bottles with substrate (ABTS)
- Bottles with Stop Solution



Spanish registration n° 3465RD

EXPIRATION: 18 MONTHS. Stored at 2°C-8°C

**Eurofins-INGENASA**  
 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