

INgezim® Neospora 3.0

R.12.NC.K1

INgezim® Neospora 3.0 es un ensayo inmunoenzimático basado en la técnica de ELISA indirecto, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de IgG bovina y un extracto de proteínas de *Neospora caninum* como antígeno.

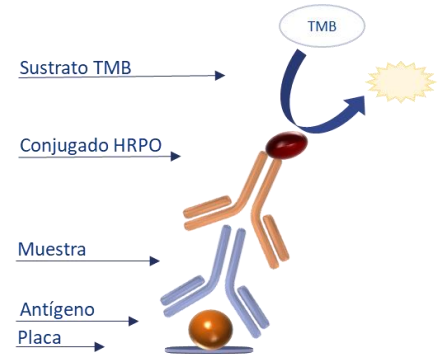
CARACTERÍSTICAS DEL KIT

APLICACIÓN

Detección de anticuerpos específicos de *Neospora caninum* en muestras de suero bovino.

BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se suministran tapizadas con antígeno de *Neospora caninum*. Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si la muestra contiene anticuerpos frente a *Neospora caninum*, éstos se unen al antígeno tapizado.
3. Se añade el conjugado específico (anticuerpo monoclonal específico de IgG bovina), marcado con peroxidasa. Éste se unirá a los anticuerpos de la muestra unidos al antígeno. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras la adición del sustrato



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece dos cut off. Las muestras se considerarán **Positivas**, cuando su valor de IRPC sea superior al cut off positivo; **Negativas**, cuando su valor de IRPC sea inferior al cut off negativo y **Dudosas** si el valor de IRPC se encuentra entre los dos cut off.

VALIDACIÓN DEL ENSAYO

1. ESTUDIO COMPARATIVO CON LA VERSIÓN 2.0

Se realizó una comparativa con la versión anterior, con objeto de evaluar la mejora de la versión 3.0. Para ello, se utilizaron 29 sueros positivos por ELISA "in house" y Western Blot (WB), esta última considerada como técnica de referencia en este estudio; 11 sueros negativos por WB y ELISA "in house" y 7 sueros positivos por WB y negativos por ELISA "in house"

Se obtuvieron los siguientes resultados:

| | | ELISA "in house" | WB |
|----------------------|---------------|------------------|------|
| INgezim Neospora 3.0 | Sensibilidad | 93% | 81% |
| | Especificidad | 89% | 100% |

2. ESTUDIO COMPARATIVO CON CIVTEST® BOVIS NEOSPORA

Sueros catalogados previamente

Se realizó una comparativa con el ensayo ELISA comercial CIVTEST® BOVIS NEOSPORA.

Se utilizaron 29 sueros positivos por WB y ELISA "in house" (grupo A), 11 sueros negativos por WB y ELISA "in house" (grupo B), 7 sueros positivos por WB y negativos por ELISA "in house" (grupo C), 33 sueros no infectados con *N. caninum* y seronegativos por ELISA (grupo D) y 11 sueros de animales infectados con otros protozoos formadores de quistes (*Besnoitia* y/o *Sarcocystis*) (grupo E).

Se obtuvieron los siguientes resultados:

| | | ELISA "in house" | WB | CIVTEST® Bovis Neospora |
|-------------------------|---------------|------------------|------|-------------------------|
| CIVTEST® Bovis Neospora | Sensibilidad | 93% | 81% | |
| | Especificidad | 97% | 100% | |
| INgezim® Neospora 3.0 | Sensibilidad | 93% | 81% | 100% |
| | Especificidad | 97% | 100% | 100% |

*La comparativa con WB se ha realizado únicamente con los grupos A, B y C de sueros. Los grupos D y E se utilizan junto con el resto en la comparativa entre los tres ELISAs.

Sueros de campo

Se analizaron un total de 614 sueros de campo procedentes de zonas en las que existe la enfermedad. Todos los sueros se analizaron por INgezim Neospora 3.0 y CIVTEST® BOVIS NEOSPORA como "Gold Standard".

Se obtuvieron los siguientes resultados:

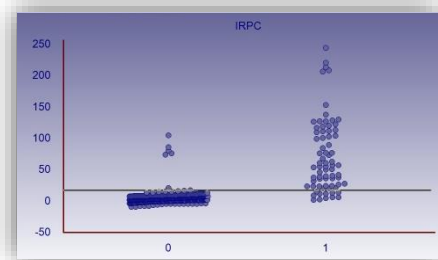
| | | CIVTEST® BOVIS NEOSPORA | | |
|----------------------|----------|-------------------------|----------|-------|
| | | POSITIVO | NEGATIVO | TOTAL |
| INGEZIM NEOSPORA 3.0 | POSITIVO | 63 | 3 | 66 |
| | NEGATIVO | 10 | 538 | 548 |
| | TOTAL | 73 | 541 | 614 |

La sensibilidad y especificidad relativa de INgezim Neospora 3.0 respecto a CIVTEST® BOVIS NEOSPORA, fueron del 86% y 99% respectivamente.

3. ANÁLISIS DE ROC

Para este análisis se incluyeron todos los sueros utilizados en la validación del ensayo, clasificados previamente por CIVTEST® BOVIS NEOSPORA (utilizados en estudios 1 y 2).

Los resultados obtenidos indicaron una buena capacidad del ensayo en la discriminación entre positivos y negativos.



COMPOSICION DEL KIT

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



Registro nº 0800-RD

CADUCIDAD: 12 MESES. Conservado a 2°C-8°C

Eurofins -INGENASA, S.A

Calle de los Hermanos García Noblejas 39, 8º

28037 MADRID (SPAIN)

Tel: (+34)91 3680501

ingenasa.eurofins-technologies.com



IT-73840
IT-73780

9191.INGE

9175.ING2

INgezim® Neospora 3.0

R.12.NC.K1

INgezim® Neospora 3.0 is an immunoenzymatic assay based on an indirect ELISA technique, which uses a monoclonal antibody (Mab) specific to bovine IgG and a soluble extract of *Neospora caninum* proteins.

KIT FEATURES

APPLICATION

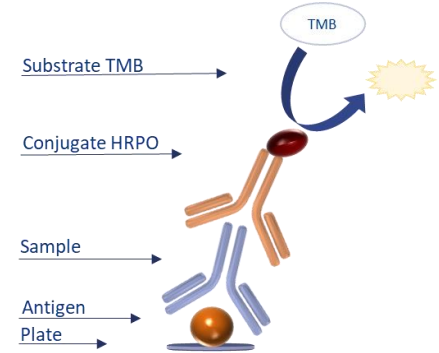
Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* in bovine sera samples.

TECHNICAL BASIS OF THE KIT

1. Plates supplied are coated with *Neospora caninum* antigen. Samples are added to the wells and incubated.
2. If the sample contains antibodies to *Neospora caninum*, they will bind to the antigen.
3. When a monoclonal antibody specific for bovine IgG is added, it will bind to them. The monoclonal antibody has been conjugated with HRPO for future detection.
4. This binding is detected by the development of the colorimetric reaction after the addition of the substrate.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

The assay establishes two cut offs. Samples will be considered **Positive** if its IRPC value is higher than the positive cut off; **Negative**, if its IRPC value is lower than the negative cut off. IRPC values between both cut offs will be considered **Doubtful**.



ASSAY VALIDATION

1. COMPARISON WITH OTHER TECHNIQUES

A comparative study was carried out with the previous version in order to evaluate the improvement of version 3.0. For this purpose, 29 sera positive by ELISA "in house" and Western Blot (WB), which is considered in the study as the "Gold Standard"; 11 sera negative by WB and ELISA "in house" and 7 sera positive by WB and negative by ELISA "in house" were used.

The following results were obtained:

| | | ELISA "in house" | WB |
|----------------------|-------------|------------------|------|
| INgezim Neospora 3.0 | Sensitivity | 93% | 81% |
| | Specificity | 89% | 100% |

2. COMPARATIVE STUDY USING CIVTEST® BOVIS NEOSPORA

Sera previously classified

A comparative study was performed with the commercial ELISA assay CIVTEST® BOVIS NEOSPORA.

29 sera positive by WB and ELISA "in house" (group A), 11 sera negative by WB and ELISA "in house" (group B), 7 sera positive by WB and negative by ELISA "in house" (group C), 33 sera not infected with *N. caninum* and negative by ELISA (group D) and 11 sera from animals infected with other protozoa forming cysts. (Besnoitia and/or Sarcocystis) (group E) were used.

The following results were obtained:

| | | ELISA "in house" | WB | CIVTEST® Bovis Neospora |
|-------------------------|-------------|------------------|------|-------------------------|
| CIVTEST® Bovis Neospora | Sensitivity | 93% | 81% | |
| | Specificity | 97% | 100% | |
| INgezim® Neospora 3.0 | Sensitivity | 93% | 81% | 100% |
| | Specificity | 97% | 100% | 100% |

*Comparative with WB was made only with groups A, B, & C. Groups D, and E were used together with the rest groups only to compare the 3 ELISAs.

Field sera

In this study, 614 field sera from areas in which the disease is present, were used. All sera were analyzed by INgezim® Neospora 3.0 and CIVTEST® Bovis Neospora.

Results obtained are shown below:

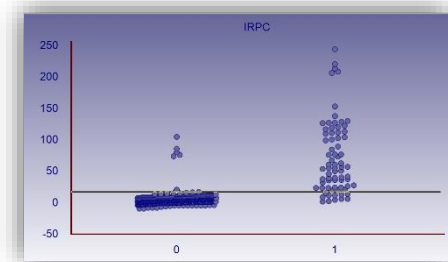
| | | CIVTEST® BOVIS NEOSPORA | | |
|----------------------|----------|-------------------------|----------|-------|
| | | POSITIVE | NEGATIVE | TOTAL |
| INGEZIM NEOSPORA 3.0 | POSITIVE | 63 | 3 | 66 |
| | NEGATIVE | 10 | 538 | 548 |
| | TOTAL | 73 | 541 | 614 |

From this study, we can conclude that, in comparison with CIVTEST® Bovis Neospora, INgezim® Neospora 3.0 showed 86% and 99% relative sensitivity and specificity respectively.

3. ROC ANALYSIS

For this analysis, all sera classified by CIVTEST® Bovis Neospora used in the validation, were included (studies 1 and 2).

The obtained results indicated a good capability of INgezim® Neospora 3.0 to discriminate between positive and negative samples.



COMPOSITION OF THE KIT

- 96 wells microtitration plates
- Vials with positive control
- Vials with negative control
- Vials with conjugate
- Bottle with washing solution
- Bottle with diluent
- Bottle with substrate
- Bottle with stop solution



Spanish registration nº 0800-RD

EXPIRATION: 12 MONTHS. Store at 2°C-8°C

Eurofins -INGENASA, S.A

Calle de los Hermanos García Noblejas 39, 8º

28037 MADRID (SPAIN)

Tel: (+34)91 3680501

ingenasa.eurofins-technologies.com



IT-73840
IT-73780

9191.INGE

9175.INGE