



Procedimiento de la OMSA para el registro de los kits de diagnóstico Resumen de los estudios de validación

Nombre del kit de diagnóstico: Kit de diagnóstico rápido VDRG® FMDV 3Diff/PAN Ag

Fabricante: MEDIAN Diagnostics Inc.

Número de procedimiento/aprobación: WOAHO 022029

Fecha de registro: Mayo de 2023

Enfermedad: Fiebre aftosa (FA) en porcino y bovino.

Agente patógeno: Virus de la fiebre aftosa (VFA)

Tipo de prueba: Prueba de flujo lateral o prueba a pie de establo

Objetivo de la prueba: El kit rápido VDRG® FMDV 3Diff/PAN Ag es una prueba de flujo lateral o a pie de establo destinada a la detección universal del virus de la fiebre aftosa (VFA) y a la diferenciación de los serotipos A, O y Asia-1 en muestras de tejido (epitelio) o de líquido procedente de ampollas o lesiones abiertas de porcinos o bovinos sospechosos de estar infectados. La prueba está diseñada para su uso en el diagnóstico rápido de la infección por el virus de la fiebre aftosa en muestras procedentes de ganado porcino o bovino.

Especies y muestras

Muestras de tejido (epitelio) o líquido de ampollas o de lesiones abiertas de porcino o bovino sospechoso de estar infectado.

1. Información sobre el kit

Por favor, consulte el prospecto del kit disponible en el apartado de registros de la página web de la OMSA, o contacte con el fabricante MEDIAN Diagnostics Inc.

2. Resumen de los estudios de validación

Especificidad analítica

Conclusión: El kit no reaccionó ante otros virus que causan lesiones vesiculares similares a los síntomas clínicos del virus de la fiebre aftosa; específicamente el virus de la estomatitis vesicular, el virus de la enfermedad vesicular porcina y el virus del valle del Senecca. Además, no hubo reacción cruzada con otros serotipos dentro de cada línea

Nº	Nombre del virus	Reacción cruzada
1	Virus de la estomatitis vesicular	No
2	Virus de la enfermedad vesicular porcina	No
3	Virus del valle del Senecca	No

Sensibilidad analítica

Conclusión: El límite de detección se midió diluyendo en serie 10 veces la solución de cultivo del virus utilizando las muestras negativas. La solución de cultivo del virus se tituló previamente con $DICT_{50}/ml$ ($DICT_{50}$: dosis que resulta infectiva en el 50% de los cultivos tisulares expuestos). Después, se comparó con ELISA de antígeno (DETECCIÓN DE ANTÍGENO DEL VFA y ELISA DE SEROTIPADO del VFA -O, A, C, Asia1, SAT1-2, Pirbright, UK) y RT-PCR (kit MasterMix de RT-PCR en tiempo real para el VFA AccupPower, BIONEER).

Aunque hay una ligera diferencia entre cepas, este kit rápido de Antígeno pudo detectar hasta $1,12 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$ para el tipo O, hasta $1,12 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$ para el tipo A, y $8,43 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$ para el tipo Asia1. El límite de detección (LoD) de este kit rápido de antígeno para el tipo SAT1 fue de $8,43 \times 10^5$ $DICT_{50}/ml$; para el tipo SAT2 fue de $1,5 \times 10^5$ $DICT_{50}/ml$, y para el tipo SAT3 fue de hasta $7,38 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$ cuando se utilizó la solución de cultivo vírico enriquecida en saliva.

El tipo O fue detectable en $5,01 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$, el tipo A en $3,16 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$, el tipo Asia1 en $3,2 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$, el tipo SAT1 en 2×10^5 $DICT_{50}/ml$, el tipo SAT2 en $7,9 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$, y el tipo SAT3 en $5,01 \times 10^4$ $DICT_{50}/ml$ cuando se utilizó la solución de cultivo vírico enriquecida en un homogeneizado de tejido al 20%.

Límite de detección (adición a saliva)

Serotipo	Cepa	Topotipo	$DICT_{50}/ml$	Punto de corte rápido		
				VDRG VFA 3Diff/PAN($DICT_{50}/ml$)		RT-PCT
				Tira 3Diff	Tira PAN	Valor Ct
O	Jin-cheon	SEA/Mya-98	$1,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	24,94
O	O/Hapcheon/KOR/2014	SEA/Mya-98	$1,12 \times 10^6$	$1,12 \times 10^4$	$1,12 \times 10^4$	26,91
O	Gim-je	SEA/Mya-98	$1,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	25,82
O	Bo-eun	ME-SA/ind-2001d	$1,42 \times 10^7$	$1,42 \times 10^5$	$1,42 \times 10^5$	18,41
O	Jeong-eup	ME-SA/Ind-2001d	$3,56 \times 10^6$	$3,56 \times 10^4$	$3,56 \times 10^4$	19,18
O	O1manisa	ME-SA	$1,12 \times 10^6$	$1,12 \times 10^4$	$1,12 \times 10^4$	20,2
A	Po-cheon	Asia/Sea-97	$4,74 \times 10^6$	$4,74 \times 10^5$	$4,74 \times 10^5$	16
A	Yeon-cheon	Asia/Sea-97	$1,50 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	16,02
A	Malaysia97	Asia/Sea-97	$2,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	22,27
A	P1A-189	FMDV A/SAU/2/2015	$4,74 \times 10^5$	$4,74 \times 10^4$	$4,74 \times 10^4$	16,38
A	Iran05	Asia/Iran-05	$6,32 \times 10^5$	$6,32 \times 10^4$	$6,32 \times 10^4$	17,06
A	A22 Iraq	Asia/G-IV	$1,12 \times 10^6$	$1,12 \times 10^5$	$1,12 \times 10^4$	19,6
Asia1	MOG/05	G-V	$1,50 \times 10^7$	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	17,08
Asia1	CAM/9/80		$8,43 \times 10^6$	$8,43 \times 10^4$	$8,43 \times 10^4$	17,56
Asia1	Shamir		$1,12 \times 10^7$	$1,12 \times 10^5$	$1,12 \times 10^5$	20,61
SAT1	SAT1/BOT/1/68	WZ(III)	$8,43 \times 10^6$	-	$8,43 \times 10^5$	15,33
SAT2	SAT2/ZIM/5/81	WZ(II)	$1,50 \times 10^6$	-	$1,5 \times 10^5$	15,84
SAT3	SAT3/ZIM/4/81		$7,38 \times 10^6$	-	$7,38 \times 10^4$	19,05

Límite de detección (adición a tejido)

Serotipo	Cepa	DICT ₅₀ /ml	Punto de corte rápido		
			VDRG VFA 3Diff/PAN(DICT ₅₀ /ml)		RT-PCR
			Tira 3Diff	Tira 3Diff	Tira 3Diff
O	O1manisa	5,01x10 ⁷	5,01x10 ⁴	5,01x10 ⁴	24,94
A	A22 Iraq	3,16x10 ⁶	3,16x10 ⁴	3,16x10 ⁴	24,85
Asia1	Shamir	3,2x10 ⁵	3,2x10 ⁴	3,2x10 ⁴	24,76
SAT1	SAT1/BOT/1/68	2x10 ⁶	-	2x10 ⁵	19,33
SAT2	SAT2/ZIM/5/81	7,9x10 ⁵	-	7,9x10 ⁴	22,01
SAT3	SAT3/ZIM/4/81	5,01x10 ⁶	-	5,01x10 ⁴	24,96

Repetibilidad

Conclusión: Utilizando una serie de productos de tres lotes, tres técnicos independientes analizaron la sustancia patrón (O, A y Asia1, cada una de las cuales a nivel de positiva fuerte, media y débil, y 4 muestras negativas, en total, 13 muestras) dos veces al día durante 10 días por cada lote. Se determinó que los resultados de las pruebas de precisión dentro de una misma ejecución, entre ejecuciones, entre días y dentro de un mismo laboratorio eran coherentes.

Tres técnicos comprobaron la repetibilidad con tres lotes de productos y constataron que el 100% de los resultados eran coherentes.

Nº de patrón	#1		#2		Porcentaje de coincidencia
	Tira 3Diff	Tira PAN	Tira 3Diff	Tira PAN	
FMDVO-001	3+	3+	3+	3+	100%
FMDVO-002	2+	2+	2+	2+	100%
FMDVO-003	1+	1+	1+	1+	100%
FMDVA-001	3+	3+	3+	3+	100%
FMDVA-002	2+	2+	2+	2+	100%
FMDVA-003	1+	1+	1+	1+	100%
FMDVAS-001	3+	3+	3+	3+	100%
FMDVAS-002	2+	2+	2+	2+	100%
FMDVAS-003	1+	1+	1+	1+	100%
Sal-B-001	-	-	-	-	100%
Sal-B-002	-	-	-	-	100%
Sal-P-001	-	-	-	-	100%
Sal-P-002	-	-	-	-	100%
Tis-B-001	-	-	-	-	100%
Tis-B-002	-	-	-	-	100%
Tis-P-001	-	-	-	-	100%
Tis-P-002	-	-	-	-	100%

Características diagnósticas

Determinación del umbral y estimaciones de la sensibilidad (DSe) y de la especificidad (DEs) diagnósticas:

Conclusión

Los valores de sensibilidad, especificidad e IC se calcularon empleando https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php

1. Sensibilidad

Muestras positivas para el VFA de Corea, Vietnam y Myanmar

Sensibilidad en bovinos: 98,35% (n=595/605), (IC del 95%: 96,98% ~ 99,20%)

Sensibilidad en porcinos: 99,1% (n= 544/549), (IC del 95%: 97,89% a 99,70%)

Total: 98,7% de sensibilidad (n=1139/1154), (IC del 95%: 97,87% a 99,27%)

2. Especificidad

Saliva negativa para el VFA en Corea (RT-PCR)

Especificidad en bovinos: 100% (n=92/92), (IC del 95%: 96,07% a 100,00%)

Especificidad en porcinos: 99,5% (n= 398/400), (IC del 95%: 98,21% a 99,94%)

Tejido negativo para el VFA en Corea (RT-PCR)

Especificidad en bovinos: 100% (n=150/150), (IC del 95%: 97,57% a 100%)

Especificidad en porcinos: 100% (n= 150/150), (IC del 95%: 97,57% a 100%)

Total: 99,7% de especificidad (n= 790/792), (IC del 95%: 99,09% a 99,97%)

Reproducibilidad

Reproducibilidad analítica

Conclusión: Utilizando una serie de productos, investigadores de tres laboratorios diferentes analizaron la sustancia estándar (O, A y Asia1, cada una de las cuales a nivel de positiva fuerte, media y débil, y 4 muestras negativas, en total, 13 muestras) dos veces al día durante 5 días por lote. Se determinó que todos los resultados de las pruebas de reproducibilidad eran coherentes.

Tres laboratorios diferentes comprobaron la reproducibilidad, y el 100% de los resultados fueron coherentes.

Reproducibilidad diagnóstica

Conclusión: Utilizando una serie de productos, investigadores de dos laboratorios de diagnóstico diferentes analizaron la sustancia estándar (O y A, cada una de las cuales a nivel de positiva fuerte, media y débil, y 4 muestras negativas, en total 16 muestras) dos veces al día durante 3 días por lote. Se obtuvieron 2 resultados diferentes en muestras positivas débiles y se determinó que todos los demás resultados eran coherentes.

Dos laboratorios diferentes comprobaron la reproducibilidad y el 99,5% de los resultados fueron coherentes.

Bibliografía

Ku, B., Nah, J. & Ryoo, S., Sagong, M. & Kim, T. & Park, S-H. & Lee, J-W & Lee H J. & Wee, S-H. Development of rapid detection lateral flow strip kit for Foot-and-Mouth Disease virus serotypes O, A and Asia1 in clinical samples, 2017 Global FMD Research Alliance, p63, 2017.

JACOBSON R.H. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases, Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 17, p469-486, 1998.