



INgezim® RHDV1/2 DIF CROM

R.17.RHD.K.42

INgezim® RHDV1/2 DIF CROM es un ensayo inmunocromatográfico dúplex, que utiliza dos anticuerpos específicos del virus de la enfermedad hemorrágica de conejo (RHDV).

CARACTERÍSTICAS DEL KIT

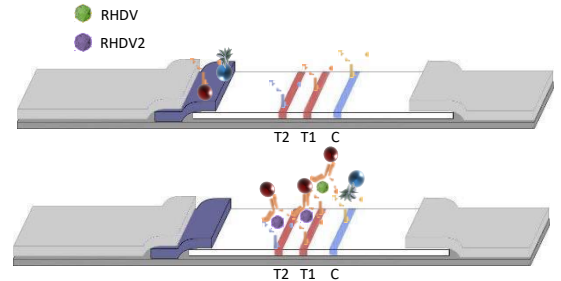
APLICACIÓN

Detección y diferenciación específica del virus de la enfermedad hemorrágica de conejo (RHDV y RHDV2) en homogeneizados y exudados de hígado de conejo.

BASE TÉCNICA

El dispositivo de diagnóstico está compuesto por un absorbente de conjugado que contiene un anticuerpo que reconoce las dos variantes de RHDV, unido covalentemente a partículas de látex rojo; y una proteína control unida a partículas de látex azul, que actúa como indicador del correcto desarrollo de la inmunocromatografía.

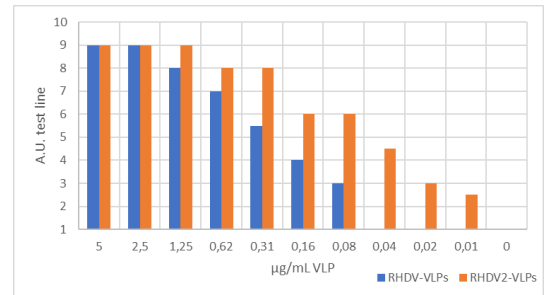
La membrana contiene dos líneas test (T) y una línea control (C): T1, en la que se encuentra un anticuerpo que reconoce las dos variantes de RHDV; T2, en la que se encuentra inmovilizado un anticuerpo específico de RHDV tipo 2; y una línea control, en la que se encuentra un anticuerpo específico de la proteína control. Si el virus está presente en la muestra, este reaccionará con las partículas de látex rojo recubiertas por el anticuerpo común a ambas variantes y, a continuación, el complejo formado migrará a través de la membrana y se unirá a la línea T1 si es RHDV tipo 1 o a ambas líneas test (T1 y T2) si es RHDV tipo 2. En algún caso, cuando la carga viral de RHDV2 es baja, puede aparecer únicamente la línea inferior (T2). De este modo, según el número y posición de líneas test rojas que aparezcan, se podrá determinar la variante presente en la muestra. Si la muestra no contiene virus RHD, no aparecerá color en ninguna línea T.



VALIDACIÓN DEL ENSAYO

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Con objeto de determinar la sensibilidad analítica del ensayo, se realizaron diluciones seriadas de partículas similares a virus (VLPs), RHDV-VLPs y RHDV2-VLPs, en tampón de cromatografía, que fueron posteriormente analizadas. Como se muestra en la siguiente figura, el límite de detección (LoD) del ensayo fue 0,08 µg/mL para RHDV-VLPs y 0,02 µg/mL para RHDV2-VLPs.



SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICAS

Un total de 96 muestras de hígado fueron analizadas, 23 correspondían a muestras RHDV positivas, 42 a muestras RHDV2 positivas y 31 eran muestras negativas. Además, un total de 40 exudados de hígado fueron analizados, 24 correspondían a muestras RHDV2 positivas y 16 a muestras negativas. Todas las muestras fueron previamente clasificadas como negativas o positivas a RHDV o RHDV2 por RT-PCR. Además, las muestras de hígado fueron también analizadas por un ensayo ELISA comercial para la detección común de antígeno de RHDV o RHDV2 (INgezim® RHDV DAS, Eurofins-Ingenasa, S.A.).

Considerando todas las muestras de hígado, los resultados obtenidos indicaron una especificidad >99,9% y una sensibilidad del 93,8% en comparación a RT-PCR.

Estos resultados fueron comparados con los resultados obtenidos analizando las muestras por el ELISA comercial descrito anteriormente, obteniendo alta correspondencia en los resultados (coeficiente kappa = 0,977).

Respecto a los exudados de hígado, la sensibilidad alcanzada con muestras RHDV2 positivas fue del 95,8 %, manteniéndose la especificidad (>99,9%).

Detección	Muestras de hígado		Muestras de exudado de hígado	
	Sensibilidad % (95% CI)	Especificidad % (95% CI)	Sensibilidad % (95% CI)	Especificidad % (95% CI)
RHDV	91,3 (71,9 – 98,7)	>99,9 (88,7-100,0)	ND	>99,9 (79,2-100,0)
RHDV2	95,5 (84,5 – 99,3)	>99,9 (88,7-100,0)	95,8 (78,8 – 99,3)	>99,9 (79,2-100,0)

COMPOSICION DEL KIT

- Dispositivos de cromatografía
- Viales con diluyente



CADUCIDAD: 12 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





INgezim® RHDV1/2 DIF CROM

R.17.RHD.K.42

INgezim® RHDV1/2 DIF CROM is a duplex immunochromatographic assay, which uses two antibodies specific to Rabbit Haemorrhagic Disease Virus (RHDV).

KIT FEATURES

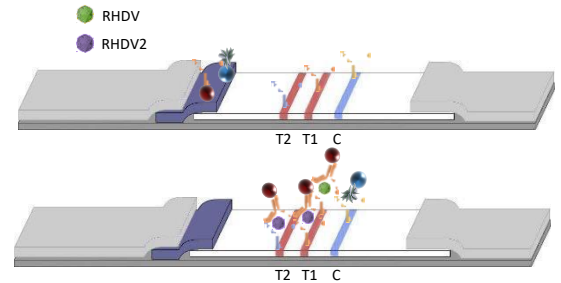
APPLICATION

Detection and specific differentiation of Rabbit Haemorrhagic Disease Virus (RHDV and RHDV2) in rabbit liver homogenates and exudates.

TECHNICAL BASE

The diagnostic device consists of a conjugate pad that contains an antibody that recognizes the two RHDV variants, covalently bound to red latex particles; and a control protein bound to blue latex particles, which acts as an indicator of the correct development of the immunochromatography.

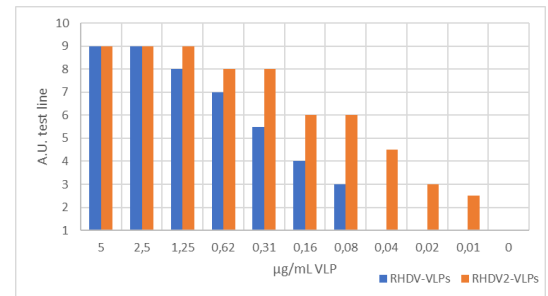
The membrane contains two test lines (T) and a control line (C): T1, where an antibody that recognizes the two RHDV variants is placed; T2, where a RHDV type 2 specific antibody is placed; and a control line, where an antibody specific to the control protein is placed. If the sample contains virus, it will react with the red latex particles bound to the antibody common to both variants, then, the formed complex will migrate through the membrane and will bind to the T1 line if the sample is RHDV type 1 positive or to both test lines (T1 and T2) if the sample is RHDV type 2 positive. In some cases, when the RHDV2 viral load is low, only the lower line (T2) may appear. In this way, depending on the number and position of red test lines that appear, the variant present in the sample can be determined. If the sample does not contain RHD virus, no colour will appear in any T line.



ASSAY VALIDATION

ANALYTICAL SENSITIVITY

In order to determine the analytical sensitivity of the test, serial dilutions of Virus Like Particles (VLPs), RHDV-VLPs and RHDV2-VLPs, were performed in running buffer and consequently analysed. As shown in the following figure, the limit of detection (LoD) of the assay was 0.08 µg/mL for RHDV-VLPs and 0.02 µg/mL for RHDV2-VLPs.



DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

A total of 96 liver samples were analysed, 23 corresponded to RHDV positive samples, 42 to RHDV2 positive samples and 31 to negative samples. Furthermore, a total of 40 liver exudates were analysed, 24 corresponding to RHDV2 positive samples and 16 to negative samples. Samples were previously classified as negative or positive to RHDV or RHDV2 by RT-PCR. Furthermore, liver samples were also analysed by a commercial ELISA for a common detection of RHDV and RHDV2 antigen (INgezim® RHDV DAS, Eurofins-Ingenasa, S.A).

Considering all the liver samples, results indicated >99.9% specificity and 93.8% sensitivity compared to RT-PCR. These results were compared with the results obtained when analysing the samples by the commercial ELISA described above, obtaining an excellent agreement (weighted kappa of 0.977%).

Regarding liver exudates, sensitivity reached 95.8% among RHDV2 samples, maintaining the specificity (>99,9%).

Detection	Liver samples		Liver exudates samples	
	Sensitivity % (95% CI)	Specificity % (95% CI)	Sensitivity % (95% CI)	Specificity % (95% CI)
RHDV	91.3 (71.9 – 98.7)	>99.9 (88.7-100.0)	ND	>99.9 (79.2-100.0)
RHDV2	95.5 (84.5 – 99.3)	>99.9 (88.7-100.0)	95.8 (78.8 – 99.3)	>99.9 (79.2-100.0)

COMPOSITION OF THE KIT

- Chromatographic devices
- Vials with diluent



EXPIRATION: 12 MONTHS. Stored at 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



IT-73840
IT-73780

9191.INGE

9175.ING2