



## INGEZIM FIV-VET

Prod Ref: 16.FIV.K8-32

Ensayo inmunoenzimático de tipo indirecto, para la detección de anticuerpos específicos frente al virus de la inmunodeficiencia felina en suero ó plasma de gato

Indirect immunoenzymatic assay for detection of specific antibodies to Feline Immunodeficiency virus in serum or plasm from cats

Ultima revision / Last revision: 07-03-08

---

COMPOSICION DEL KIT  
KIT COMPOSITION

Reactivo Reagent	1 placa (8x4 pocillos) 1 plate box (8x4 wells)	
	Uni.	Vol.
Tiras de 8 pocillos (divisibles), que permiten la utilización parcial del kit, antigenadas con un péptido específico del VIF divisibles strips of 8 wells each one coated with a FIV specific peptide	4	-
Gotero suero Control Positivo a la dilución de uso Dropper positive control serum, ready to use	1	1,5 ml
Gotero suero Control Negativo a la dilución de uso Dropper negative control serum, ready to use	1	1,5 ml
Gotero conjugado específico, a la dilución de uso Dropper of peroxidasa conjugate ready to use	1	5 ml
Gotero cromógeno a la dilución de uso Dropper of chromogen solution ready to use	1	3 ml
Gotero sustrato a la dilución de uso Dropper of substrate solution ready to use	1	3 ml
Gotero diluyente de suero (DE03-01) Dropper of sera diluent (DE03-01)	1	6 ml
Bote solución de lavado concentrada 10x Bottle 10x concentrated washing solution	1	60 ml
Asas calibradas Calibrated loops for dispensing the sera samples	40	1 µl

## I. FUNDAMENTO TECNICO DEL KIT

---

Nuestro kit se basa en la técnica del inmunoensayo enzimático indirecto cuyo fundamento se detalla a continuación.

En caso de infección por el virus de la inmunodeficiencia felina, la respuesta inmune del animal dará lugar a los anticuerpos específicos, que son a la postre los detectados en el ensayo.

Al ser una patología para la que no existe vacuna, la detección de anticuerpos es definitiva para la confirmación diagnóstica.

Las placas se suministran tapizadas con un péptido del VIF de gran capacidad antigénica.

En cada pocillo se dispensan los sueros problemas a valorar. Cuando estos contengan anticuerpos frente al virus, se unirán al péptido de la placa y tras sucesivos lavados para eliminar el material no adherido, podrá demostrarse la presencia de los mismos mediante la adición de un conjugado antiespecie marcado con peroxidasa.

Tras la adición del sustrato adecuado, los pocillos en los que se han ensayado sueros con anticuerpos específicos presentarán una reacción coloreada. Mientras que en los pocillos donde se hayan ensayado sueros negativos, no aparecerá reacción coloreada

## II. PRECAUCIONES:

---

1. Leer atentamente las instrucciones de uso.
2. Mantener los reactivos a temperatura ambiente antes de su utilización. **¡MUY IMPORTANTE!**
3. No mezclar reactivos ni instrucciones de diferentes kits.
4. Evitar cualquier contaminación de los reactivos.
5. No utilizar los kits una vez superada la fecha de caducidad.
6. No comer, beber, ni fumar mientras se manipulen los reactivos y/o las muestras.
7. Incluir sistemáticamente un control positivo y uno negativo siempre que se utilice el kit.
8. Utilizar un asa nueva por cada muestra a testar.

## III. CONSERVACION DEL KIT:

---

Todos los reactivos que se suministran con el kit, deben mantenerse en refrigeración entre +2°C y +8°C hasta su utilización.

## IV. INFORMACION SOBRE EL MODO DE REALIZAR LOS LAVADOS:

---

Los lavados pueden realizarse mediante bote lavador que permita dispensar con cierta precisión la solución de lavado a cada pocillo. Tras las incubaciones, realizar los lavados según las siguientes instrucciones:

- Ⓡ Eliminar el contenido de la placa volcándola bruscamente para evitar el intercambio de fluidos entre los pocillos.
- Ⓡ Distribuir la solución de lavado de forma uniforme y con cierta presión sobre los pocillos a utilizar. Dosificar la Solución de Lavado, según número de pocillos usados.
- Ⓡ Volcar la placa bruscamente para vaciar su contenido.

- Ⓡ Repetir el proceso cuantas veces sea indicado en el procedimiento.
- Ⓡ Antes de eliminar el contenido del último lavado, asegurarse de tener preparado reactivo a utilizar inmediatamente. No debe mantenerse la placa en seco.
- Ⓡ Tras el último lavado, sacudir la placa boca abajo sobre un papel de filtro absorbente.

## V. PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

Para el ensayo de los sueros, se realiza la **dilución 1/100** de los mismos, mediante las asas calibradas y el diluyente de suero, de la manera indicada en el procedimiento.

## VI. FORMA DE UTILIZAR EL ASA CALBRADA:

- ◆ Utilizar un asa diferente por cada suero problema.
- ◆ Para captar el volumen adecuado de suero, introducir únicamente el anillo final del asa en el recipiente que contiene la muestra.
- ◆ El volumen captado se deposita por simple introducción del anillo final del asa en el pocillo correspondiente, al que previamente se le ha añadido el diluyente de suero.
- ◆ La dilución se homogeneiza mediante giros suaves del asa en el interior del pocillo.

## VII. PREPARACION DE REACTIVOS:

Todos los reactivos se encuentran en disposición de ser utilizados, sin precisar de manipulaciones previas, a excepción de la *Solución de Lavado* que se suministra 10 veces concentrada, por lo que debe diluirse antes de ser utilizada, del modo que se especifica a continuación:

Disolver una parte de solución concentrada en 9 partes de agua destilada. Una vez preparada la solución, permanece estable mantenida entre +2°C y +8°C.

*Por ejemplo:* 60 ml de solución concentrada mas 540 ml de agua destilada.

## VIII. PROCEDIMIENTO:

1. Llevar todos los reactivos del kit a temperatura ambiente, antes de iniciar el ensayo.
2. Añadir **2 gotas** de diluyente de suero a cada pocillo donde vaya a ser testado un suero problema. Posteriormente y con ayuda del asa calibrada, captar **1 µl** de suero problema y depositarlo en los pocillos donde se dispense el diluyente. Para homogeneizar la dilución, se realizan suaves giros con el asa dentro de cada pocillo. Los controles + y -, se encuentran a la dilución de uso y bastará con añadir **2 gotas** de cada uno, en dos pocillos elegidos para ello (sin añadir previamente diluyente de suero). Cubrir e incubar **10 minutos a temperatura ambiente.**
3. **Lavar 5 ó más veces** según instrucciones anteriores.

4. Añadir **2 gotas** de Conjugado (antiespecie-Peroxidasa) a cada pocillo. Tapar e incubar **10 minutos a temperatura ambiente**.
5. **Lavar 5 veces** según el procedimiento indicado.
6. Añadir **1 gota** de cromógeno a todos los pocillos. A continuación, añadir **1 gota** de sustrato en el mismo orden.
7. Mantener la reacción durante **5 minutos** a temperatura ambiente y proceder a la lectura de resultados.

## IX. LECTURA E INTERPRETACION DE RESULTADOS

**La lectura se realizará visualmente, determinando si existe o no viraje de color (de incoloro a azul).**

### **Validación del ensayo:**

Tomamos para ello como referencia los controles.

- ⇒ Control negativo: No debe existir viraje de color (incoloro).
- ⇒ Control positivo: Debe existir viraje de color (azul).

En caso de no ser así, el ensayo no puede considerarse válido.

### **Interpretación de resultados:**

- ⇒ **Muestras negativas:** aquellas que no hayan virado de color (pocillo incoloro).
- ⇒ **Muestras positivas:** aquellas en las que se detecta viraje de color (pocillo azul).

El ensayo es válido únicamente como test cualitativo (positivo y negativo).

## I. TECHNICAL BASIS

---

This kit is based on an indirect enzymatic immunoassay (Indirect ELISA). We make a brief description of the technique below:

We fix the antigen on a solid support (polystyrene plate). When a sample serum contains specific antibodies against the virus, they will bind to the antigen adsorbed on plate. After washing to eliminate all non-fixed material from the sera sample, we can detect the presence of cat immunoglobulins using a specific peroxidase conjugate.

After addition of the substrate a colorimetric reaction will appear which could be detected

In this way the presence of colour means the presence of antibodies against the virus in the cat sera, and the absence of colour the absence of specific antibodies.

The aim of this kit is to provide the users with a reliable diagnostic technique for this disease.

In our kit is important to remark the use of a synthetic peptide like antigen. This method warrants the total absence of infectivity in the kit.

## II. PRECAUTIONS AND WARNING FOR USERS:

---

1. Read the instructions of use carefully.
2. Bring all reagents to room temperature (20°-25°C) prior to use. **IMPORTANT!**
3. Do not mix instructions or reagents from different kits.
4. Avoid any contamination of the reagents of the Kit.
5. Do not use components after expiration dates and do not mix components
6. There should be no eating, drinking, or smoking where specimens or Kit reagents are being handled.
7. For each utilisation of the kit, control positive and negative serum must be tested in a systematic way.the pipette.
8. Use a new loop for each sera sample.

## III. STORAGE CONDITIONS:

---

All reagents and components, must be stored at 4 °C.

## IV. INFORMATION ABOUT THE WASHING STEPS:

---

The washing steps could be done using a washing solution bottle or a multichanel pipetting device suitable for dispensing 300 µl on each well.

After the incubation periods, the washing steps must be done following the next instruction:

1. Throw out the content of the wells by a brusque turn over of the to avoid the possible mixture of the content from one well to another
2. Fill up the wells with the washing solution (prepared following the instructions).
3. Shake delicately the wells, avoiding the contamination between wells.
4. Turn over the plate brusquely to empty the wells.
5. Repeat the process as many times is indicated on the instructions of the kit.
6. Prior to empty the content of the last washing step, verify that the next reagent to be added to the plate is ready to use.
7. Do not maintain the plate on dry more time than strictly needed.
8. After the last step of washing shake the plate turned over an absorbent filter paper.

## V. PREPARATION OF SAMPLES:

The sera samples need to be at **1/100** dilution in sera diluent to be tested.  
You get it using the calibrated loop and following the instruction

## VI. WAY TO USE THE CALIBRATED LOOPS:

- Ⓡ Use one different calibrated loop for each sera sample.
- Ⓡ For taking the adequate volume introduce only the final loop into the sample container.
- Ⓡ The captured volume (1 µl) is deposited by simple introduction of the loop into the appropriate well (in which previously it has been added 2 drops of sera diluent).
- Ⓡ The dilution is homogenised by soft turns of the loop into the well.

## VII. PREPARATION OF REAGENTS:

All the reagents are ready to use, without any previous manipulation. Only the washing solution is 10 x concentrated.

distilled or deionized water. When ready this solution remains stable when is stored between +2°C and +8°C.

### WASHING SOLUTION PREPARATION:

Dilute one part of the concentrate washing solution provided in the kit into 9 parts of

**Example:** 60 ml. of concentrated washing solution into 540 ml. of distilled or deionized water.

## VIII. TEST PROCEDURE:

1. Take out the strips or wells to be used and keep it at room temperature before starting the test (at least 2 hours).
2. Add **2 drops** of serum diluent on every well where serum samples are going to be tested. Then and using the calibrated loops add **1 µl** of serum sample on each well following the previous instructions. Positive and negative controls are supplied already diluted, that's why it is only needed to add **2 drops** of each sera control into two different empty wells. Seal the wells and incubate for **10 minutes at room temperature**.
3. **Wash 5 or more times** following the described procedure.
4. Add **2 drops** of conjugate, to each well. Seal the plate and incubate for **10 minutes at room temperature**.
5. **Wash 5 or more times** following the described procedure.
6. Add **1 drop** of chromogen solution, to each well and **1 drop** of substrate solution in the same way. Keep the plate for **5 min at room temperature**.  
Read the results.

## IX. READING AND INTERPRETAION OF THE RESULTS:

The reading must be done by visual colour turn detection.

**Positive control:** There must be a colour development (blue).

### Kit validation:

The colour development in the wells of the control sera, will be used as reference:

### Results Interpretation:

**Negative samples:** There is no colour turn detection.

**Negative control:** There must be no colour development (transparent).

**Positive samples:** There is colour turn detection.

Developed and manufactured in Spain by:

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.  
C/ Hnos. García Noblejas, 39  
28037- MADRID (SPAIN)  
Tif: +34 91368.05.01/04  
Fax: +34 91 408.75.98  
E-mail: [ingenasa@ingenasa.com](mailto:ingenasa@ingenasa.com)  
[www.ingenasa.es](http://www.ingenasa.es)

Distributed in

by:



IT-73840  
IT-73780



ISO 14001:2015  
9191.INGE



ISO 9001:2015  
9175.ING2