

Bioclin ^{+Vet}

VETLISA FIV Ac

REF **VET042**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais contra o vírus da imunodeficiência felina (FIV) em amostras de soro ou plasma de felinos, por ensaio imunoenzimático, em microplaca. Somente para diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou ensaio imunoenzimático. O VETLISA FIV Ac é um ensaio imunoenzimático em fase sólida, baseado no princípio de imunocaptura para a detecção qualitativa de anticorpos totais contra o vírus da imunodeficiência felina (FIV) em soro ou plasma. Anticorpos contra o vírus da imunodeficiência felina presentes na amostra se ligam aos antígenos recombinantes do vírus, que revestem a microplaca, formando complexos imobilizados: antígeno de FIV-anticorpos anti-FIV. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. O Conjugado, formado por anti-anticorpos de felino conjugados à peroxidase, é adicionado e se liga ao complexo antígeno-anticorpo imobilizado na placa. Após a segunda incubação, a microplaca é lavada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul, que indica a presença de anticorpos contra FIV. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação, promovendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Placa de poliestireno, dividida em 12 tiras de 8 poços cada, impregnada com antígeno recombinante de vírus da imunodeficiência viral felina (FIV).
- 2- Conjugado Concentrado (100x)** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução com anticorpos anti-anticorpos de felino ligado à Peroxidase.
- 3- Lavagem Concentrada (20x)** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão Fosfato, surfactante e conservante.
- 4- Diluente** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 5- Substrato TMB - Armazenar entre 2 e 8°C.** Contém: Solução contendo Tetrametilbenzidina (TMB), Solução de Ácido Cítrico e Peróxido de Ureia.
- 6- Solução de Parada** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução de Ácido Sulfúrico 1N.
- 7- Controle negativo** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Soro Negativo para imunodeficiência viral felina e conservante.
- 8- Controle Positivo** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Soro Positivo para imunodeficiência viral felina e conservante.
- 9- Seladores de Placa**

APRESENTAÇÃO

Componentes	Apresentação		
	1	2	5
	96 cavidades	192 cavidades	480 cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 unidade	2 unidades	5 unidades
2- Conjugado Concentrado	1 x 250 µL	2 x 250 µL	5 x 250 µL
3- Lavagem Concentrada	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
4- Diluente	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
5- Substrato TMB	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
6- Solução de Parada	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
7- Controle Negativo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
8- Controle Positivo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
9- Seladores de Placa	3 unidades	6 unidades	15 unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instruções de uso (manual).

Materiais necessários, não contidos no Kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorvância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6- Cronômetro ou relógio.
- 7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte pode ser feito em temperatura ambiente (até 30°C) por até 5 dias. Manter ao abrigo de luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* veterinário profissional.
- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.
- 4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
- 5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
- 6- Não misture reagentes de kits ou lotes diferentes. Não utilize componentes do kit vencidos.
- 7- Não coma, beba ou fume no local de realização do ensaio.
- 8- Não pipete reagentes ou amostra(s) utilizando a boca. Não utilize a mesma ponteira para pipetar diferentes amostras.
- 9- Os Controles Positivo e Negativo devem ser retestados para cada novo ensaio realizado.
- 10- A Solução de Parada contém Ácido Sulfúrico, que é um ácido

forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.

11- O profissional deve seguir com rigor as normas e rotinas de segurança ao manipular amostras biológicas. O uso de luvas descartáveis e outros equipamentos de proteção individual é imprescindível.

12- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.

13- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.

14- Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as microcavidades sequem durante o ensaio.

15- Manusear os componentes do kit com o devido cuidado, a fim de evitar sua contaminação. Utilize ponteiras e recipientes novos ou adequadamente limpos para seu manuseio e não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.

16- A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.

17- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

18- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha com Dados de Segurança) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

19- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

20- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA)

Utilizar soro ou plasma. Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit VETLISA FIV Ac é estável após aberto durante, pelo menos, 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Diluição das Amostras

Em um tubo de ensaio, diluir 15 µL da amostra em 300 µL de Diluente (Reagente N° 4), se for realizar o ensaio em duplicata. Tampar o tubo e agitar em vórtex gentilmente ou homogeneizar manualmente por inversão. As diluições não podem ser armazenadas.

ATENÇÃO: Os Controles Positivo e Negativo são prontos para o uso.

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo da Lavagem Concentrada (Reagente N° 3) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 a 30 °C por até 30 dias. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

USO VETERINÁRIO

Solução de Conjugado

Diluir o Conjugado Concentrado (Reagente N° 2) na proporção de 1:101 em Diluente (Reagente N° 4). Prepare a solução no momento de realizar o ensaio.

Para realizar um ensaio utilizando todas as cavidades do kit, misture 110 µL do Conjugado Concentrado em 11 mL de Diluente. Para realizar um ensaio utilizando 8 cavidades (1 tira), misture 10 µL do Conjugado Concentrado em 1 mL de Diluente.

IMPORTANTE: A solução de conjugado diluída não pode ser estocada. Por isso, prepare apenas a quantidade necessária para realizar o ensaio.

Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

TÉCNICA

Para uso em equipamentos automáticos, consulte o SAC (Serviço de Assessoria do Cliente).

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os Reagentes, Controles e Amostras, para estabilizarem em temperatura ambiente (15 - 30°C) por no mínimo 40 minutos.

1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas para a embalagem original selada.

2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).

3- Pipetar 100 µL do Controle Negativo e Controle Positivo nas cavidades previamente determinadas. **Obs: Os controles estão prontos para o uso, não sendo necessário diluí-los.**

4- Pipetar 100 µL das Amostras previamente diluídas nas cavidades previamente determinadas. Na cavidade Branco (OPCIONAL), caso tenha feito a opção, pipetar somente 100 µL do diluente.

5- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placas.

6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.

7- Retirar o selador das cavidades.

8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (lavadora) ou por decantação (manual).

Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. Agitar por 3 segundos em cada lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.

Nota: Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.

9- Pipetar 100 µL de Conjugado previamente diluído em todas as cavidades.

10- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.

12- Retirar o selador de placa das cavidades.

13- Repetir o item 8.

14- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades.

15- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

16- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.

17- Retirar o selador de placa das cavidades.

18- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.

19- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos.

20- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIA (FILTRO DUPLO)
Branco	< 0,100
Controle Negativo	0,100 a 0,300
Controle Positivo	> 0,800

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

Cálculos

Calcular Cut-off de acordo com a seguinte fórmula:

$\text{Cut-off} = \text{Absorbância média do Controle Negativo} + 0,250$
--

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Controle Negativo	0,151
	0,149
Cut-off = Absorbância média do Controle Negativo + 0,250	$((0,151+0,149) / 2) + 0,250 = 0,400$

Calcular o Índice dividindo a absorbância da amostra pelo valor de Cut-off.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	1,626
Valor de Cut-off	0,400
Índice = Abs. da Amostra / Valor de Cut-off	$1,626 / 0,400 = 4,1$

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usadas para cálculo dos resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para a determinação dos resultados.

ITEM	ABSORBÂNCIA
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	$\geq 0,9$ e $\leq 1,1$

Observação: Resultado indeterminado indica que a amostra apresentou absorbância na zona cinzenta do ensaio, entre os limites de corte estabelecidos para o ELISA de microplaca para detecção de anticorpos anti-FIV, não permitindo confirmar ou excluir exposição ou infecção pelo vírus da imunodeficiência felina. Valores intermediários podem ocorrer em fase inicial de soroconversão (especialmente nas primeiras semanas após a exposição, nas quais a produção de anticorpos pode levar até cerca de 60 dias para se tornar claramente detectável), em presença de anticorpos maternos em filhotes ou por interferências pré-analíticas e variações analíticas. Recomenda-se repetir o teste, preferencialmente utilizando nova amostra, a fim de descartar variabilidade analítica ou interferentes. Em gatos com risco recente de exposição ou suspeita clínica compatível, pode ser indicada a realização de testes confirmatórios, como PCR para detecção de provírus FIV, de acordo com as diretrizes vigentes. Quando não for possível excluir exposição recente, recomenda-se repetir a sorologia no intervalo necessário para permitir o desenvolvimento completo da resposta imune, geralmente próximo de 60 dias após a última possível exposição. Em filhotes, a presença de anticorpos maternos pode causar resultados indeterminados ou reações fracas e, nesses casos, a reavaliação deve ser realizada quando o gato atingir idade em que esses anticorpos normalmente já desapareceram, idealmente após seis meses de vida, permitindo determinar se os anticorpos detectados refletem infecção verdadeira ou apenas transferência passiva. Até que o status infeccioso seja esclarecido, o gato deve ser considerado potencialmente infeccioso para outros felinos. A interpretação final deve ser realizada pelo Médico Veterinário, integrando histórico, sinais clínicos e exames complementares.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnóstico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação, antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Os resultados devem ser interpretados por médico veterinário habilitado em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo da doença.

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada por Triglicérides 1500 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 88 amostras negativas para o vírus da imunodeficiência felina (FIV), mas positivas para outras infecções. Foram testadas 10 amostras positivas para Peritonite infecciosa felina (PIF), 7 amostras positivas para Herpesvírus felino, 8 amostras positivas para calicivírus felino, 8 amostras positivas para Panleucopenia felina (Parvovirose), 9 amostras positivas para *Mycoplasma harmofelis* (hemoplasmose), 7 amostras positivas para *Bartonella henselae*, 10 amostras positivas para Criptococose, 10 amostras positivas para Histoplasmose, 10 amostras positivas para Toxoplasmose e 10 amostras positivas para o vírus da leucemia felina (FeLV). Não foi observada reatividade cruzada com nenhuma das amostras. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais e clínicos.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitam avaliar a precisão e a exatidão das medições.

DESEMPENHO DO PRODUTO

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,420	0,820	0,050
Desvio Padrão	0,033	0,053	0,004
Coefficiente de Variação (%)	7,866	6,465	8,411

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes. Foram obtidos os seguinte resultados:

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,428	0,817	0,051
Desvio Padrão	0,033	0,038	0,005
Coefficiente de Variação (%)	7,739	4,669	9,174

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Este produto foi testado em comparação com outro método imunossorológico. Foram analisadas um total de 120 amostras, sendo 40 amostras diagnosticadas como positivas e 80 diagnosticadas como negativas. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do produto é > 99,9% e a especificidade clínica é 91,2%.

Método		Referência		Total	
VELLISA FIV Ac	Resultado	Negativo	Positivo		
		Negativo	73	0	73
		Positivo	7	40	47
Resultado Total		80	40	120	

Sensibilidade Clínica: > 99,9% (40 / 40) - IC 95%: 95%-100%

Especificidade Clínica: 91,2% (73 / 80) - IC 95%: 85,31% – 97,19%

Precisão: 94,17% ((73 + 40) / (80 + 40))

SIGNIFICADO CLÍNICO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) é causada por um retrovírus do gênero *Lentivirus*, que se integra ao genoma do hospedeiro e estabelece uma infecção persistente. O curso clínico é geralmente dividido em três fases: uma fase aguda, caracterizada por febre e linfadenopatia discreta; uma fase assintomática prolongada, que pode durar anos; e uma fase crônica, marcada por imunossupressão progressiva decorrente da redução dos linfócitos CD4+ e da inversão da relação CD4:CD8. Nessa fase, o animal torna-se mais suscetível a infecções oportunistas, doenças inflamatórias crônicas e neoplasias, como linfomas. O diagnóstico é tradicionalmente baseado na detecção de anticorpos específicos contra o FIV. Esses anticorpos surgem geralmente entre duas e oito semanas após a infecção e permanecem detectáveis por toda a vida do gato, tornando a sorologia uma ferramenta sensível e eficaz para identificação de gatos infectados. Entretanto, resultados negativos podem ocorrer em fases muito precoces da infecção, antes da soroconversão, ou em casos de imunossupressão avançada. Em filhotes jovens, a presença de anticorpos maternos pode interferir na interpretação dos resultados. A identificação de gatos infectados é essencial para o manejo clínico adequado, o controle da disseminação do vírus e o estabelecimento de medidas preventivas. O método ELISA oferece alta sensibilidade, especificidade e capacidade de processamento de múltiplas amostras simultaneamente, permitindo padronização, rastreabilidade e aplicação em rotinas laboratoriais e estudos epidemiológicos. Nesse contexto, o VELLISA FIV Ac destaca-se como uma ferramenta diagnóstica confiável e precisa, permitindo a detecção de anticorpos anti-FIV de forma rápida e segura, auxiliando o médico-veterinário no diagnóstico, monitoramento e tomada de decisões clínicas relacionadas à infecção pelo FIV.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Hosie MJ, Addie DD, Belák S, et al. ABCD guidelines on feline immunodeficiency virus (FIV) infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2009;11(7):575–584. Atualizado em 2017.
- Little S, Levy J, Hartmann K, et al. 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2020;22(1):5–30.
- Spriffler F, Jongwattanapisan P, Luengyosuechakul S, et al. Prevalence and Risk Factors of Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukemia Virus Infection in Healthy Cats in Thailand. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;8:764217.
- Westman ME, Coggins SJ, van Dorselaer M, et al. Feline immunodeficiency virus (FIV) infection in domestic pet cats in Australia and New Zealand: Guidelines for diagnosis, prevention and management. *Australian Veterinary Journal*. 2022;100(8):345–359.
- Westman ME, Malik R, Norris JM. Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection: an update for clinicians. *Australian Veterinary Journal*. 2019;97(3):47–55.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes produzidos pela **Quibasa Química Básica Ltda** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31.565 -130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Produto Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento desde 11/11/2019 sob o número 10.281/2019.

Responsável Técnico: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20611)

Revisão: Março/2026

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA -N- TESTE		INFLAMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZAR		PRODUTO ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

VETLISA FIV Ac

REF **VET042**

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para determinación cualitativa de anticuerpos totales contra el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) en muestras de suero o plasma de felinos, mediante ensayo inmunoenzimático en microplaca. Solo para diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimainmunoensayo o inmunoenzimático
El VETLISA FIV Ac es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida, basado en el principio de inmunocaptura para la detección cualitativa de anticuerpos totales contra el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) en suero o plasma. Los anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia felina presentes en la muestra se unen a los antígenos recombinantes del virus, que recubren la microplaca, formando complejos inmovilizados: antígeno de FIV-anticuerpos anti-FIV. Después de la incubación inicial, se lava la microplaca para eliminar los materiales no unidos.

Se añade el conjugado, formado por anti-anticuerpos felinos conjugados con peroxidasa, y se une al complejo antígeno-anticuerpo inmovilizado en la placa. Después de la segunda incubación, se lava la microplaca para eliminar los excedentes. A continuación, se añade el sustrato y se incuba, obteniéndose un color azul que indica la presencia de anticuerpos contra FIV. Se añade la solución de parada para interrumpir la reacción, provocando un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Placa sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa de poliestireno, dividida en 12 tiras de 8 pocillos cada una, impregnada con antígeno recombinante del virus de la inmunodeficiencia felina (FIV).

2- Conjugado concentrado (100x) - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución de anticuerpos anti-felinos ligado a la peroxidasa.

3- Lavado concentrado (20x) - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón de fosfato, tensioactivo y conservante.

4- Diluyente - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, tensioactivo, estabilizante y conservante.

5- Sustrato TMB - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución que contiene Tetrametilbencidina (TMB), Solución de Ácido Cítrico y Peróxido de Urea.

6- Solución de parada - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución de ácido sulfúrico 1N.

7- Control negativo - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Suero negativo para inmunodeficiencia viral felina y conservante.

8- Control positivo - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Suero positivo para inmunodeficiencia viral felina y conservante.

9- Selladores de Placa

PRESENTACIÓN

Componentes	Presentación		
	1	2	3
	96 pocillos	192 pocillos	480 pocillos
1- Placa Sensibilizada	1 unidad	2 unidades	5 unidades
2- Conjugado Concentrado	1 x 250 µL	2 x 250 µL	5 x 250 µL
3- Lavado Concentrado	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
4- Diluyente	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
5- Sustrato TMB	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
6- Solución de Parada	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
7- Control Negativo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
8- Control Positivo	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
9- Selladores de Placa	3 unidades	6 unidades	15 unidades

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.
- Instrucciones de uso (manual).

Materiales necesarios, no contenidos en el kit:

- 1-Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- 2-Repetidor para pipeteo repetitivo de volúmenes de 500 µL con coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplacas (opcional).
- 4- Lector de ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar los pozos.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.
- 8- Agua destilada o desionizada.
- 9- Herramientas de control de calidad.
- 10- Incubadora a 37 °C ± 2 °C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento do producto deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) por até 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1-Solo para uso de diagnóstico *in vitro* veterinario profesional.
- 2-Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.
- 3-El sobre que contiene la microplaca debe abrirse solo después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de los micropocillos no utilizados en el sobre, selle y almacene **entre 2 y 8°C.**
- 4-El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.
- 5-Las columnas desionizadoras saturadas liberan agua alcalina, diferentes iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.
- 6-No mezcle reactivos de diferentes kits o lotes. No utilice componentes del kit vencidos.
- 7-No coma, beba o fume en el lugar de la prueba.
- 8-No pipetee reactivos ni muestras con la boca. No utilice la misma punta de pipeta para pipetear diferentes muestras.
- 9-Los controles positivo y negativo deben volver a probarse para

cada nueva prueba realizada.

10-La solución de parada contiene ácido sulfúrico, que es un ácido fuerte. Por tanto, manipúlelo con el debido cuidado.

11-El profesional debe seguir estrictamente las normas y rutinas de seguridad al manipular muestras biológicas. Es fundamental el uso de guantes desechables y otros equipos de protección personal.

12-Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia en el tiempo de reacción entre los pocillos.

13-Como medida de protección cubrir la placa durante la reacción.

14-Asegúrese de que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.

15-Manipule los componentes del kit con el debido cuidado para evitar la contaminación. Utilice puntas y recipientes nuevos o debidamente limpios para manipularlos y no exponga los reactivos, especialmente el sustrato, a luz intensa o vapores de hipoclorito durante los pasos de almacenamiento o incubación.

16-La manipulación de cualquier producto que contenga suero puede ser potencialmente transmisora de enfermedades. Por lo tanto, se deben tomar las precauciones de bioseguridad adecuadas al manipular estos productos.

17-Se recomienda aplicar las normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que los reactivos y material biológico se eliminen de acuerdo con la legislación vigente.

18-Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a través del SAC (Servicio de Atención al Cliente) de Quibasa.

19-No utilice el producto en caso de daños en el embalaje.

20-Es fundamental que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA)

Utilice suero o plasma. No se deben utilizar muestras hemolizadas o altamente lipémicas. Las muestras pueden conservarse refrigeradas, entre 2 y 8 °C, durante un máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a una temperatura de -20 °C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de Abierto

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit VETLISA FIV Ac es estable después de abrirlo hasta por 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba y el entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS DE TRABAJO

Dilución de las muestras

En un tubo de ensayo, diluir 15 µL de la muestra en 300 µL de Diluyente (Reactivo N.º 4), si se va a realizar el ensayo por duplicado. Tapar el tubo y agitar suavemente en vórtex o homogenizar manualmente mediante inversión. Las diluciones no pueden ser almacenadas.

ATENCIÓN: Los Controles Positivo y Negativo están listos para usar.

Solución de lavado

Diluir el contenido del Lavado Concentrado (Reactivo N.º 3) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Una vez preparada, la solución se puede conservar entre 2 y 30 °C hasta 30 días. Si ocurre cristalización, calentar a 37°C hasta que se disuelva.

USO VETERINARIO

Solución de Conjugado

Diluir el Conjugado Concentrado (Reactivo N.º 2) en una proporción de 1:101 en Diluyente (Reactivo N.º 4). Preparar la solución en el momento de realizar el ensayo.

Para realizar un ensayo utilizando todos los pocillos del kit, mezclar 110 µL del Conjugado Concentrado en 11 mL de Diluyente.

Para realizar un ensayo utilizando 8 pocillos (1 tira), mezclar 10 µL del Conjugado Concentrado en 1 mL de Diluyente.

IMPORTANTE: La solución de conjugado diluido no puede ser almacenada. Por lo tanto, prepare únicamente la cantidad necesaria para realizar el ensayo.

Sustrato

El sustrato está listo para su uso.

TÉCNICA

Para uso en equipos automáticos, consultar al Servicio de Atención al Cliente (SAC).

Antes de comenzar el ensayo, colocar todos los reactivos, controles y muestras, para estabilizarse a temperatura ambiente (15 - 30°C) durante al menos 40 minutos.

1-Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras (se recomiendan pruebas duplicadas). Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.

2-Separar lo primero pocillo para el Blanco (OPCIONAL).

3-Pipetear 100 µL del Control Negativo e del Control Positivo en los pocillos previamente determinados.

Obs: Los controles están listos para usar, no hay necesidad de diluirlos.

4-Pipetear 100 µL de las muestras previamente diluidas en los pocillos previamente determinados. En el pocillo Blanco (OPCIONAL), si se ha elegido esta opción, pipetear únicamente 100 µL de Diluyente.

5-Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

6-Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.

7-Retirar el sellador de placas de los pocillos.

8-Desechar el contenido de los pocillos por aspiración (lavadora) o por decantación (manual). Usar aproximadamente 300 µL de la Solución de Lavado, previamente preparada, y efectuar un total de cinco (5) ciclos de lavado. Agitar durante 3 segundos en cada lavado. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, golpear la placa durante algunos segundos sobre papel absorbente.

Nota: Un lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.

9-Pipetear 100 µL de Conjugado previamente diluido en todos los pocillos.

10-Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

11-Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.

12-Retirar el sellador de placas de los pocillos.

13-Repetir el ítem 8.

14-Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pocillos.

15-Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.

16-Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.

17-Retirar el sellador de placas de los pocillos.

18-Pipetear 100 µL de la Solución de Parada en todos los pocillos.

19-Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos.

20-Leer utilizando filtro doble: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura do Blanco y dos Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIA (FILTRRO DOBLE)
Blanco	< 0,100
Control Negativo	0,100 a 0,300
Control Positivo	> 0,800

Si los valores están fuera de los valores esperados, la prueba debe repetirse.

Cálculos

Calcule el Cut-off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut-off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,250

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo	0,151
	0,149
Cut-off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,250	$((0,151+0,149) / 2) + 0,250 = 0,400$

Calcular el Índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut-off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,626
Valor de Cut-off	0,400
Índice: Abs. de la Muestra / Valor de Cut-off	$1,626 / 0,400 = 4,1$

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no se pueden utilizar para calcular los resultados.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO

Después de calcular el índice de la muestra, considere los índices siguientes para determinar los resultados.

RESULTADOS	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	$\geq 0,9$ y $\leq 1,1$

Observación: Un resultado indeterminado indica que la muestra presentó absorbancia en la zona gris del ensayo, entre los límites de corte establecidos para el ELISA de microplaca para la detección de anticuerpos anti-FIV, sin permitir confirmar ni excluir la exposición o infección por el virus de la inmunodeficiencia felina. Los valores intermedios pueden ocurrir en la fase inicial de seroconversión (especialmente en las primeras semanas después de la exposición, en las cuales la producción de anticuerpos puede tardar hasta aproximadamente 60 días en volverse claramente detectable), en presencia de anticuerpos maternos en los cachorros o debido a interferencias preanalíticas y variaciones analíticas. Se recomienda repetir la prueba, preferentemente utilizando una nueva muestra, a fin de descartar variabilidad analítica o interferentes. En gatos con riesgo reciente de exposición o sospecha clínica compatible, puede estar indicada la realización de pruebas confirmatorias, como PCR para la detección de provirus FIV, de acuerdo con las directrices vigentes. Cuando no sea posible excluir la exposición reciente, se recomienda repetir la serología en el intervalo necesario para permitir el desarrollo completo de la respuesta inmunitaria, generalmente cerca de 60 días después de la última posible exposición. En cachorros, la presencia de anticuerpos maternos puede causar resultados indeterminados o reacciones débiles y, en estos casos, la reevaluación debe realizarse cuando el gato alcance una edad en la que dichos anticuerpos normalmente ya hayan desaparecido, idealmente después de los seis meses de vida, lo que permite determinar si los anticuerpos detectados reflejan una infección verdadera o solo transferencia pasiva. Hasta que el estado infeccioso sea aclarado, el gato debe considerarse potencialmente infeccioso para otros felinos. La interpretación final debe ser realizada por

el Médico Veterinario, integrando antecedentes, signos clínicos y exámenes complementarios.

LIMITACIONES DE PRUEBA

La interpretación de una prueba diagnóstica, no debe ser establecida con base en un sólo ensayo. Se deben incluir otras pruebas de confirmación antes de que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Los resultados deben ser interpretados por un Médico Veterinario habilitado, junto con otra información clínica disponible, antes del diagnóstico definitivo de la enfermedad.

INTERFERENTES

No se observó interferencia para Triglicéridos 1500 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatóide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 88 muestras negativas para el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV), pero positivas para otras infecciones. Se analizaron 10 muestras positivas para Peritonitis Infecciosa Felina (PIF), 7 muestras positivas para Herpesvirus felino, 8 muestras positivas para calicivirus felino, 8 muestras positivas para Panleucopenia felina (Parvovirus), 9 muestras positivas para *Mycoplasma haemofelis* (hemoplasmosis), 7 muestras positivas para *Bartonella henselae*, 10 muestras positivas para Criptococosis, 10 muestras positivas para Histoplasmosis, 10 muestras positivas para Toxoplasmosis y 10 muestras positivas para el virus de la leucemia felina (FeLV). No se observó reactividad cruzada con ninguna de las muestras. A pesar de los resultados obtenidos, no se puede descartar completamente la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio y clínicos.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a variaciones. Es importante señalar que todos los sistemas de medición tienen una variabilidad analítica característica, que debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para eso, se recomienda utilizar controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las medidas.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO**PRECISIÓN****Repetibilidad**

La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes. Se obtuvieron los siguientes resultados:

REPETIBILIDAD	ABSORBANCIA		
	1	2	3
Promedio	0,420	0,820	0,050
Desviación Estándar	0,033	0,053	0,004
Coefficiente de Variación (%)	7,866	6,465	8,411

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes. Se obtuvieron los siguientes resultados:

REPRODUCIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,428	0,817	0,051
Desviación Estándar	0,033	0,038	0,005
Coefficiente de Variación (%)	7,739	4,669	9,174

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Este producto fue evaluado en comparación con otro método inmunoenzimático. Se analizaron un total de 120 muestras, siendo 40 diagnosticadas como positivas y 80 diagnosticadas como negativas. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del producto es > 99,9% y la especificidad clínica es 91,2%.

Método		Referencia		Total
VETLISA FIV Ac	Resultado	Negativo	Positivo	
	Negativo	73	0	73
	Positivo	7	40	47
Resultado Total		80	40	120

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (40 / 40) - IC 95%: 95%-100%

Especificidad Clínica: 91,2% (73 / 80) - IC 95%: 85,31% – 97,19%

Precisión: 94,17% [(73 + 40) / (80 + 40)]

SIGNIFICADO CLÍNICO

La infección por el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) es causada por un retrovirus del género *Lentivirus*, que se integra al genoma del hospedador y establece una infección persistente. El curso clínico generalmente se divide en tres fases: una fase aguda, caracterizada por fiebre y linfadenopatía discreta; una fase asintomática prolongada, que puede durar años; y una fase crónica, marcada por inmunosupresión progresiva resultante de la reducción de los linfocitos CD4+ y de la inversión de la relación CD4:CD8. En esta fase, el animal se vuelve más susceptible a infecciones oportunistas, enfermedades inflamatorias crónicas y neoplasias, como los linfomas. El diagnóstico se basa tradicionalmente en la detección de anticuerpos específicos contra el FIV. Estos anticuerpos aparecen generalmente entre dos y ocho semanas después de la infección y permanecen detectables por toda la vida del gato, lo que hace de la serología una herramienta sensible y eficaz para la identificación de gatos infectados. Sin embargo, pueden ocurrir resultados negativos en fases muy tempranas de la infección, antes de la seroconversión, o en casos de inmunosupresión avanzada. En gatitos jóvenes, la presencia de anticuerpos maternos puede interferir en la interpretación de los resultados.

La identificación de gatos infectados es esencial para el manejo clínico adecuado, el control de la diseminación del virus y el establecimiento de medidas preventivas. El método ELISA ofrece alta sensibilidad, especificidad y capacidad de procesamiento de múltiples muestras simultáneamente, permitiendo estandarización, rastreabilidad y aplicación en rutinas de laboratorio y estudios epidemiológicos. En este contexto, el VETLISA FIV Ac se destaca como una herramienta diagnóstica confiable y precisa, permitiendo la detección de anticuerpos anti-FIV de manera rápida y segura, asistiendo al médico veterinario en el diagnóstico, monitoreo y toma de decisiones clínicas relacionadas con la infección por FIV.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Hosie MJ, Addie DD, Belák S, et al. ABCD guidelines on feline immunodeficiency virus (FIV) infection. Journal of Feline Medicine and Surgery. 2009;11(7):575–584. Actualizado en 2017.
- Little S, Levy J, Hartmann K, et al. 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery. 2020;22(1):5–30.
- Spriffler F, Jongwattanapisan P, Luengyosuechakul S, et al. Prevalence and Risk Factors of Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukemia Virus Infection in Healthy Cats in Thailand. Frontiers in Veterinary Science. 2022;8:764217.
- Westman ME, Coggins SJ, van Dorselaer M, et al. Feline immunodeficiency virus (FIV) infection in domestic pet cats in Australia and New Zealand: Guidelines for diagnosis, prevention and management. Australian Veterinary Journal. 2022;100(8):345–359.
- Westman ME, Malik R, Norris JM. Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection: an update for clinicians. Australian Veterinary Journal. 2019;97(3):47–55.
- QUIBASA: Datos del Departamento de Investigación y Desarrollo.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de Quibasa son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rúa Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

Servicio de Atención al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Producto licenciado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento desde el 11/11/2019 con el número 10.281/2019.

Responsable técnico: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20611)

Revisión: Marzo/2026

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

FUNCTION

Test for the qualitative determination of total antibodies against feline immunodeficiency virus (FIV) in feline serum or plasma samples, using a microplate enzyme immunoassay. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic assay. The VETLISA FIV Ac is a solid-phase enzyme immunoassay based on the principle of immunocapture for the qualitative detection of total antibodies against feline immunodeficiency virus (FIV) in serum or plasma. Antibodies against feline immunodeficiency virus present in the sample bind to the recombinant viral antigens that coat the microplate, forming immobilized complexes: FIV antigen–anti-FIV antibodies. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. The Conjugate, composed of anti-feline antibodies conjugated to peroxidase, is added and binds to the immobilized antigen–antibody complex on the plate. After the second incubation, the microplate is washed to remove excess material. Following this step, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the presence of antibodies against FIV. The Stop Solution is added to interrupt the reaction, promoting a color change from blue to yellow, which is measured in a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Polystyrene plate, divided into 12 strips of 8 wells each, impregnated with recombinant antigen of feline immunodeficiency virus (FIV).
- 2- Concentrated Conjugate (100x)** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Solution with anti-feline antibodies linked to Peroxidase.
- 3- Concentrated Wash (20x)** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Phosphate Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4- Diluent** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 5- Substrate TMB** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Solution containing Tetramethylbenzidine (TMB), Citric Acid Solution and Urea Peroxide.
- 6- Stop Solution** – Store between 2 and 8 °C. Contains: 1N Sulfuric Acid Solution.
- 7- Negative Control** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Negative serum for feline viral immunodeficiency and preservative.
- 8- Positive Control** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Positive serum for feline viral immunodeficiency and preservative.
- 9- Plate Sealers**

PRESENTATIONS

Components	Presentation		
	1	2	3
	96 cavities	192 cavities	480 cavities
1- Sensitized Plate	1 unit	2 units	5 units
2- Concentrated Conjugate	1 x 250 µL	2 x 250 µL	5 x 250 µL
3- Concentrated Wash	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
4- Diluent	1 x 60 mL	2 x 60 mL	5 x 60 mL
5- Substrate TMB	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
6- Stop Solution	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
7- Negative Control	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
8- Positive Control	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
9- Plate Sealers	3 units	6 units	15 units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS
Materials contained in the kit:

- Reagents described in the previous table.
- Instructions for use (manual).

Materials needed, but not contained in the kit:

- 1 – Pipettes capable of dispensing volumes from 5 to 500 µL with a coefficient of variation lower than 1.5%.
- 2 – Re pipettor for repetitive pipetting of volumes of 500 µL with coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3 – Microplate washer (optional).
- 4 – ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- 5 – Absorbent paper for drying microwells.
- 6 – Timer or stopwatch.
- 7 – Container for storing the diluted Wash Solution.
- 8 – Distilled or deionized water.
- 9 – Quality Control tools.
- 10 – Incubator at 37°C ± 2°C

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The product storage temperature should be 2 to 8 °C. Transport can be carried out at room temperature (30°C) for up to 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1– For professional veterinary *in vitro* diagnostic use only.
- 2– Follow the recommended methodology strictly to obtain accurate results.
- 3– The sachet containing the microplate must be opened only after it reaches room temperature. Replace strips from unused microwells in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.
- 4– The water used for cleaning materials must be fresh and free of contaminants.
- 5– Saturated deionizer columns release alkaline water, different ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.

6– Do not mix reagents from different kits or lots. Do not use expired components.

7– Do not eat, drink, or smoke in the testing area.

8– Do not pipette reagents or sample(s) by mouth. Do not use the same pipette tip for different samples.

9– The Positive and Negative Controls must be retested with each new assay performed.

10– The Stop Solution contains Sulfuric Acid which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.

11– The professional must strictly follow the safety rules and routines when handling biological samples. The use of disposable gloves and other personal protective equipment is essential.

12– Pipette the reagents in the same order each time to minimize reaction time differences between microwells.

13– As a safety measure, cover the plate during the reaction.

14– Make sure that the bottom of the cavity is clean and dry and that there are no bubbles on the liquid surface before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the test.

15– Handle the kit components with due care, in order to avoid contamination. Use new or properly cleaned tips and containers for handling and do not expose reagents, especially Substrate, to strong light or Hypochlorite vapors during storage or incubation steps.

16– Products containing serum are potentially capable of transmitting diseases. Appropriate biosafety precautions must be taken when handling these materials.

17– We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that reagents and biological material are disposed of in accordance with current legislation.

18– For biosafety information or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or request it via Quibasa's Customer Support Service.

19– Do not use the product if the packaging is damaged.

20– It is essential that all instruments and equipment used are properly calibrated and undergo regular maintenance.

SAMPLES
Serum or Plasma (EDTA)

Use serum or plasma. Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. Samples may be stored refrigerated between 2 and 8°C, for a maximum period of 5 days. If the samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at –20°C..

PROCESS DESCRIPTION
Stability After Open

The results of the stability test show that the VETLISA FIV Ac kit is stable for at least 30 days after opening. This stability may vary depending on test and environmental conditions. Therefore, it is recommended to monitor product performance using the internal kit controls and the assay validation criteria.

PREPARATION OF WORK REAGENTS
Samples and Controls

In a test tube, dilute 15 µL of the sample in 300 µL of Diluent (Reagent No. 4), if performing the assay in duplicate. Cap the tube and gently vortex or manually mix by inversion. The dilutions cannot be stored.

ATTENTION: The Positive and Negative Controls are ready to use.

Washing Solution

Dilute the contents of the Concentrated Wash (Reagent No. 3) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30 °C up to 30 days. If crystallization occurs, heat to 37°C until dissolved.

VETERINARY USE
Conjugate Solution

Dilute the Concentrated Conjugate (Reagent N° 2) in the proportion of 1: 101 in Diluent (Reagent N° 4). Prepare the solution when performing the test.

To perform a test using all the wells of the kit, mix 110 µL of the Concentrated Conjugate in 11 mL of Diluent.

To perform an assay using 8 wells (1 strip), mix 10 µL of the Concentrated Conjugate in 1 mL of Diluent.

IMPORTANT: The diluted conjugate solution cannot be stored. Therefore, prepare only the amount necessary to perform the test.

Substrate

The Substrate is ready to use.

TECHNIQUE
For use in automatic equipment, consult the Customer Service Department (SAC).

Before starting the test, place all reagents, samples and controls to stabilize at room temperature (15 - 30 °C) for at least 40 minutes.

1- Separate the cavities to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return the unused strips of the microplate to the original sealed package.

2- Separate the first cavity for Blank (OPTIONAL).

3- Pipette 100 µL of the Negative Control and Positive Control in the previously determined wells. **Note: Controls are ready to use and do not require dilution.**

4- Pipette 100 µL of the samples previously diluted in the previously determined wells. In the Blank cavity (OPTIONAL), if you have made the option, pipette only 100 µL of the diluent.

5- Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with plate sealers.

6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

7- Remove the plate sealer from the wells.

8- Discard the contents of the wells by aspiration (washer) or decanting (manual).

Use approximately 300 µL of Washing Solution, previously prepared, and perform a total of five (5) wash cycles. Shake for 3 seconds with each wash. To guarantee the drying of the plate, at the end of the washing, beat the plate for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing / drying can cause inadequate results.

9- Pipette 100 µL of Conjugate previously diluted in all wells.

10- Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with plate sealers.

11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

12- Remove the plate sealer from the wells.

13- Repeat item 8.

14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.

15- Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with a plate sealer.

16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.

17- Remove the plate sealer from the wells.

18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.

19- Mix gently for approximately 10 seconds.

20- Read the plate using dual-wavelength filters: 450 nm / 630 nm, within 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained for reading the Blanck and the Controls are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCE (DOUBLE FILTER)
Blank	< 0.100
Negative Control	0.100 to 0.300
Positive Control	> 0.800

If the values are outside the expected values, the technique should be repeated.

Calculations

Calculate Cut-off according to the following formula:

Cut-off = Average absorbance of the Negative Control + 0.250
--

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Negative Control	0.151
	0.149
Cut-off = Negative Control Average Absorbance + 0.250	$((0.151+0.149) / 2) + 0.250 = 0.400$

Calculate the Index by dividing the sample absorbance by the Cut-off value. Example

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.626
Cut-off Value	0.400
Index: Sample Abs. / Cut-off Value	$1.626 / 0.400 = 4.1$

Note: The data presented in the examples are for illustration only and cannot be used to calculate the results.

INTERPRETATION OF THE RESULT

After calculating the sample indices, consider the indices below to determine the results.

RESULTS	INDEX
Negative	< 0.9
Positive	> 1.1
Undetermined	$\geq 0.9 - \leq 1.1$

Note: An indeterminate result indicates that the sample showed absorbance within the assay's gray zone, between the cutoff limits established for the microplate ELISA used to detect anti-FIV antibodies, which does not allow confirmation or exclusion of exposure to, or infection with, feline immunodeficiency virus. Intermediate values may occur during the early phase of seroconversion (especially in the first weeks after exposure, during which antibody production may take up to approximately 60 days to become clearly detectable), in the presence of maternal antibodies in kittens, or due to pre-analytical interferences and analytical variations. It is recommended to repeat the test, preferably using a new sample, in order to rule out analytical variability or interfering factors. In cats with recent exposure risk or compatible clinical suspicion, confirmatory testing—such as PCR for detection of FIV provirus—may be indicated according to current guidelines. When recent exposure cannot be excluded, it is recommended to repeat serology after an interval that allows full development of the immune response, generally around 60 days after the last possible exposure. In kittens, the presence of maternal antibodies may cause indeterminate results or weak reactions, and in such cases, reevaluation should be performed when the cat reaches an age at which these antibodies have normally disappeared, ideally after six months of age, allowing determination of whether the detected antibodies reflect true infection or merely passive transfer. Until the infectious status is clarified, the cat should be considered potentially infectious to other felines. Final interpretation must be performed by the Veterinarian, integrating history, clinical signs, and complementary tests.

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be established on the basis of a single test. Other confirmatory tests must be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results must be interpreted in conjunction with other clinical information available before the definitive diagnosis of the disease.

INTERFERENTS

No interference was observed for Triglycerides 1500 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Oxalic Acid 60 mg/dL, Factor Rheumatoid 980 IU/mL, C Reactive Protein 41.2 mg/dL and Antistreptolysin O 1023 IU/mL.

GROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was conducted, evaluating 88 samples that were negative for feline immunodeficiency virus (FIV) but positive for other infections. The following samples were tested: 10 samples positive for Feline Infectious Peritonitis (FIP), 7 samples positive for Feline Herpesvirus, 8 samples positive for feline calicivirus, 8 samples positive for Feline Panleukopenia (Parvovirus), 9 samples positive for *Mycoplasma haemofelis* (hemoplasmosis), 7 samples positive for *Bartonella henselae*, 10 samples positive for Cryptococcosis, 10 samples positive for Histoplasmosis, 10 samples positive for Toxoplasmosis, and 10 samples positive for feline leukemia virus (FeLV). No cross-reactivity was observed with any of the samples. Despite these results, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis should consider the patient's clinical data along with other laboratory and clinical findings.

INTERNAL QUALIT CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to note that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. For that, it is recommended to use controls, which allow to evaluate the precision and accuracy of the measurements.

PRODUCT PERFORMANCE**ACCURACY****Repeatability**

Repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values. The following results were obtained:

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.420	0.820	0.050
Standard Deviation	0.033	0.053	0.004
Coefficient of Variation (%)	7.866	6.465	8.411

Reproducibility

Reproducibility was calculated from 10 successive determinations over 3 consecutive days, using 3 samples with different values. The following results were obtained:

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.428	0.817	0.051
Standard Deviation	0.033	0.038	0.005
Coefficient of Variation (%)	7.739	4.669	9.174

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

This product was tested in comparison with another immunoassay method. A total of 120 samples were analyzed, with 40 samples diagnosed as positive and 80 diagnosed as negative. The results show that the clinical sensitivity of the product is > 99.9% and the clinical specificity is 91.2%.

VETLISA FIV Ac	Method	Reference		Total
	Result	Negative	Positive	
	Negative	73	0	
Positive	7	40	47	
TOTAL RESULT		80	40	120

Clinical Sensitivity: > 99.9% (40 / 40) – 95% CI: 95%–100%

Clinical Specificity: 91.2% (73 / 80) – 95% CI: 85.31%–97.19%

Accuracy: 94.17% $[(73 + 40) / (80 + 40)]$

CLINICAL SIGNIFICANCE

Feline immunodeficiency virus (FIV) infection is caused by a retrovirus of the genus *Lentivirus*, which integrates into the host genome and establishes a persistent infection. The clinical course is generally divided into three phases: an acute phase, characterized by fever and mild lymphadenopathy; a prolonged asymptomatic phase, which may last for years; and a chronic phase, marked by progressive immunosuppression resulting from a decrease in CD4+ lymphocytes and the inversion of the CD4:CD8 ratio. In this phase, the animal becomes more susceptible to opportunistic infections, chronic inflammatory diseases, and neoplasms such as lymphomas. Diagnosis is traditionally based on the detection of specific antibodies against FIV. These antibodies typically appear between two and eight weeks after infection and remain detectable throughout the cat's life, making serology a sensitive and effective tool for identifying infected cats. However, negative results may occur in very early stages of infection, before seroconversion, or in cases of advanced immunosuppression. In young kittens, the presence of maternal antibodies may interfere with interpretation of results. Identifying infected cats is essential for appropriate clinical management, controlling the spread of the virus, and establishing preventive measures. The ELISA method offers high sensitivity, specificity, and the ability to process multiple samples simultaneously, allowing standardization, traceability, and application in laboratory routines and epidemiological studies. In this context, VETLISA FIV Ac stands out as a reliable and accurate diagnostic tool, enabling rapid and safe detection of anti-FIV antibodies and assisting veterinarians in diagnosis, monitoring, and clinical decision-making related to FIV infection.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Hosie MJ, Addie DD, Belák S, et al. ABCD guidelines on feline immunodeficiency virus (FIV) infection. Journal of Feline Medicine and Surgery. 2009;11(7):575–584. Atualizado em 2017.
- Little S, Levy J, Hartmann K, et al. 2020 AAEP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery. 2020;22(1):5–30.
- Sprößler F, Jongwattanapisan P, Luengyosuechakul S, et al. Prevalence and Risk Factors of Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukemia Virus Infection in Healthy Cats in Thailand. Frontiers in Veterinary Science. 2022;8:764217.
- Westman ME, Coggins SJ, van Dorsseleer M, et al. Feline immunodeficiency virus (FIV) infection in domestic pet cats in Australia and New Zealand: Guidelines for diagnosis, prevention and management. Australian Veterinary Journal. 2022;100(8):345–359.
- Westman ME, Malik R, Norris JM. Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection: an update for clinicians. Australian Veterinary Journal. 2019;97(3):47–55.
- QUIBASA: Data from the Research and Development Department.

QUALITY GUARANTEE

Before being released for consumption, all Quibasa reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured until the validity date mentioned on the packaged, as long as they are stored and transported under the appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda.
 Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
 CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
 Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
 CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

CONSUMER SERVICE

Customer Support Service

Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Product Licensed at the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply from 11/11/2019 under the number 10.281/2019.

Technical manager: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611)

Review: March/2026

UNIVERSAL SYMBOLOGY