

ViraCHEK® FIV

Kit pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de l'immunodéficience féline

Diagnostic In Vitro à usage Vétérinaire

32-94 réactions

I. INTRODUCTION

Le Virus de l'Immunodéficience Féline (FIV) est un lentivirus pathogène spécifique du chat. Ce virus a été décrit à l'origine comme rétrovirus thymolymphotropique (FTLV) responsable d'immunodépression chronique chez les chats infectés. Les signes cliniques se manifestent généralement sur les chats d'âge moyen (4 à 7 ans) qui hébergent le virus depuis une longue période, toutefois la maladie peut être contractée à tout âge. Les signes cliniques peuvent être : gingivite chronique, maladie parodontale, anémie chronique, leucopénie, dermatopathies pustuleuses, syndrome respiratoire chronique, lymphadénopathie. Le FIV est infectieux et contagieux par l'intermédiaire du sang, généralement par des morsures. La présence d'anticorps anti-FIV chez un chat indique la contamination par le virus et, en raison des propriétés de ce lentivirus, implique une infection persistante.

ViraCHEK® FIV utilise un peptide FIV spécifique afin d'identifier rapidement les anticorps anti-FIV chez les chats infectés. ViraCHEK® FIV peut être utilisé avec des échantillons de sang total, plasma ou sérum. Le test prend 15 minutes pour détecter des anticorps circulants anti-FIV même avant apparition des signes cliniques.

II. PRINCIPE DU TEST

Les puits sont sensibilisés par de la Protéine A, qui permet une fixation des anticorps. Un peptide spécifique du FIV est marqué par de la peroxydase (HRP). L'échantillon (du sang total, du plasma ou du sérum) est incubé dans le puits en présence du peptide marqué par la peroxydase. Les anticorps dirigés contre le FIV, s'ils sont présents dans l'échantillon, se lient simultanément au puits, par l'intermédiaire de la Protéine A, et au peptide marqué par la peroxydase. Le peptide non fixé aux anticorps est éliminé par le lavage. Le substrat de la peroxydase est ensuite ajouté dans les puits. Le développement d'une couleur bleue indique la présence d'anticorps anti-FIV. En l'absence d'anticorps anti-FIV, aucun changement de couleur n'apparaît.

ViraCHEK® FIV est hautement spécifique, sensible, et simple à réaliser. Les résultats sont obtenus en 15 minutes. Le kit contient un témoin positif et un témoin négatif qui doivent être utilisés pour chaque analyse. La comparaison visuelle de la couleur des échantillons par rapport au témoin positif et au témoin négatif permet une détermination précise de la présence d'anticorps anti-FIV dans l'échantillon.

III. CONTENU DU KIT

Puits sensibilisés avec de la Protéine A	8 x 12
Flacons A peptide FIV couplé avec HRP	2 x 10.0 ml
Flacon B Témoin positif en Ac FIV	2.0 ml
Flacon C Témoin négatif en Ac FIV	2.0 ml
Flacon D Substrat TMB blue	10 ml
Flacon W Solution de lavage concentrée 10 fois	200 ml

Autres matériels fournis :

Portoir pour puits
Un sachet avec fermeture hermétique (replacer la plaque entamée dans le sachet avec la pastille rouge dessiccante)

Matériels non fournis :

Eau déminéralisée ou distillée Pissette
Minuteur Micropipettes
Lecteur de microplaques (spectrophotomètre) (optionnel)
Laveuse automatique de microplaques (optionnel)

IV. PRÉCAUTIONS

La qualité des résultats dépend du respect du mode opératoire et des bonnes pratiques de laboratoire.

1. Ne pas mélanger ou associer des réactifs provenant de kits portant des numéros de lots différents
2. Ne pas utiliser le kit après la date de péremption.
3. **Placer les réactifs à la température du laboratoire au minimum 1 heure avant utilisation.**
4. Manipuler réactifs et échantillons comme des produits à risques.
5. Eviter tout contact avec la peau et les yeux. En cas de contact accidentel, rincer abondamment à l'eau froide les parties exposées.
6. Ne pas exposer le kit directement aux rayons solaires.
7. Suivre exactement le protocole opératoire. Un lavage insuffisant des puits ou une contamination des réactifs peut entraîner l'apparition non spécifique de coloration bleue.
8. Il est conseillé d'éliminer les réactifs et matériels en contact avec les réactifs selon les exigences réglementaires. Les fiches de sécurité du produit sont disponibles sur demande.

9. Il est possible de distribuer à la micropipette le conjugué FIV (Flacon A) et le substrat (Flacon D). Pour cela, enlever le compte gouttes de chaque flacon. Les volumes à pipeter sont indiqués entre parenthèses dans le protocole opératoire (page 2). Bien refermer hermétiquement les flacons pour éviter toute fuite.

11. POUR USAGE VÉTÉRINAIRE UNIQUEMENT.

V. ÉCHANTILLONS

10 microlitres de sang total (prélevé avec des anticoagulants tels que EDTA, héparine, etc.) ou de plasma ou de sérum sont suffisants. N'utiliser que des échantillons d'origine féline. Les échantillons peuvent être stockés à 2 - 8°C jusqu'à 4 jours. Pour des durées supérieures, le sérum ou le plasma peut être congelé à -20°C. Des échantillons fortement hémolysés ou chargés en lipides peuvent induire une légère coloration. En cas de doute, réutiliser un échantillon de meilleure qualité.

Pour une meilleure fiabilité des résultats, il est fortement recommandé de ne pas tester plus de 10 échantillons par série de détermination (du fait du temps requis pour la distribution des échantillons). Pour un nombre d'échantillons supérieur à 10, il est recommandé de réaliser la distribution des échantillons à l'aide d'une micropipette multicanale à partir d'une plaque de pré-dilution.

VI. PRÉPARATION DE LA SOLUTION DE LAVAGE

Ramener la solution de lavage concentrée à température ambiante. Agiter doucement le flacon en le retournant. Diluer 10 fois (1/10) la solution concentrée avec de l'eau déminéralisée ou de l'eau distillée (par exemple 10 ml de solution de lavage concentrée dans 90 ml d'eau). La solution de lavage diluée peut être conservée 5 jours à température ambiante.

VII. RÉSULTATS

Un résultat positif indique que le chat testé a été exposé au FIV et, en raison des propriétés de ce lentivirus, implique une infection persistante. Un résultat négatif indique que le chat testé n'est pas infecté par le virus ou n'a pas encore eu de séroconversion après infection. La séroconversion chez le chat intervient de 3 semaines jusqu'à 10 mois après infection par le virus de l'immunodéficience féline (FIV). L'interprétation des résultats des tests menés sur des chatons de moins de quatre mois doit se faire avec précaution en raison de la présence éventuelle d'anticorps maternels résiduels anti-FIV.

VIII STOCKAGE – STABILITÉ DES PRODUITS

Stocker le kit et la solution de lavage diluée entre 2°C et 8°C. Ne pas congeler. Les réactifs sont valides jusqu'à la date de péremption du kit à condition qu'ils aient été stockés comme indiqué.

IX. REFERENCES

1. Pedersen NC, Ho EW, et al. Science 1987;235:790-793
2. Yamamoto JK, Sparger E, Ho EW, et al. Am J Vet Res 1988;49:1246-1258
3. Barr M. Feline Health Topics for Veterinarians 1988;3(3) 1-3,8
4. Pedersen NC: JAVMA 194(2):213-220,1989
5. Barr M., Pough MB Jacobson RH, Scott FW. Comparison and Interpretation of Diagnostic Tests for FIV. Proc. Of FeLV/FIV Colloquium, 1991.

ViraCHEK[®] FIV

PROTOCOLE OPÉRATOIRE

A. PRÉPARATION ET CONJUGUÉ

1. Contrôles

- Détacher le nombre requis de puits et les placer sur le portoir :
 - 1 puits pour le témoin positif (+)
 - 1 puits pour le témoin négatif (-)
 - 1 puits pour chaque échantillon.

Laisser les puits liés les uns aux autres.

2.

- Déposer 4 gouttes (160 µl) de conjugué FIV couplé à la peroxydase (Flacon A – Capuchon Bleu)

3.

- Déposer 1 goutte (40 µl) de témoin positif (Flacon B – Capuchon Rouge) dans le premier puits ;
- Puis 1 goutte (40 µl) de témoin négatif (Flacon C – Capuchon Vert) dans le second puits.
- Ajouter 10 µl d'échantillon à l'aide d'une micropipette adaptée. Changer de cône entre chaque échantillon.
- Tapoter le portoir plusieurs fois (pendant 10 à 15 secondes).

Incubation : **10 minutes à température ambiante (21°C – 25°C)**
(Si plusieurs échantillons sont analysés en même temps, seul un couple de témoins est nécessaire)

B. LAVAGES

4.

Lavage manuel :

- vider les puits en retournant le portoir sur un papier absorbant.
- laver les puits en les remplissant à la pissette jusqu'à ras bord avec la solution de lavage diluée
- vider les puits en les retournant sur un papier absorbant
- **renouveler le lavage cinq (5) fois**
- rincer une fois avec de l'eau distillée afin d'enlever les bulles, puis retourner le portoir sur un papier absorbant.

Lavage automatique :

- Réaliser un lavage de 6 cycles avec un laveur de microplaques ELISA. Pensez à combler les espaces libres du cadre avec des barrettes usagées.

C. RÉVÉLATION

5.

- Déposer 2 gouttes (80 µl) de substrat (Flacon D-Capuchon blanc) dans chaque puits. Homogénéiser en tapotant doucement le portoir plusieurs fois.
- **Incubation : 5 minutes.** Après incubation, tapoter légèrement le portoir pendant 5 secondes.
- Lire les résultats immédiatement (visuel ou spectrophotomètre). Se reporter à la partie interprétation des résultats.

D. INTERPRÉTATION DES RESULTATS

6.

- **Lecture visuelle :**
Le test est valide si le puits du témoin positif est bleu et celui du témoin négatif reste incolore.
- * Tout échantillon présentant une coloration inférieure ou identique à celle du témoin négatif est considéré comme **négatif**.
- * Tout échantillon présentant une coloration plus forte que celle du témoin négatif est considéré comme **positif**.
- **Lecture au spectrophotomètre :**
Mesurer la densité optique (DO) des échantillons en double longueur d'onde 630 nm – 450 nm.
Le test est validé si le témoin positif à une valeur supérieur à 0,150.
- * Tout échantillon présentant une densité optique inférieure ou égale à 0,020 (ou à la densité optique du témoin négatif si celle-ci est supérieure à 0,020) est considéré comme **négatif**.
- * Tout échantillon présentant une densité optique supérieure à 0,020 (ou à la densité optique du témoin négatif si celle-ci est supérieure à 0,020) est considéré comme **positif**.

ATTENTION : Les résultats doivent être interprétés immédiatement après une période de 5 minutes d'incubation. Au delà, une coloration non spécifique risquerait de se produire.

TECHNIQUES RIGOUREUSES = RÉSULTATS PRÉCIS

- Le sang total doit être prélevé sur anticoagulant tel que EDTA (l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique disodique), de l'héparine, du citrate, etc.
- Il est possible d'utiliser des échantillons hémolysés et riches en lipides. Cependant, des échantillons trop fortement hémolysés ou trop riches en lipides risquent de produire une coloration non spécifique. En cas de doute, se procurer des échantillons de meilleure qualité.
- Le lavage est l'étape la plus importante. Les puits ne sont jamais trop lavés. Un mauvais lavage entraînera la coloration du témoin négatif et des puits contenant les échantillons.
- Une incubation prolongée de plus de 5 minutes au moment de l'étape 6 risque de déclencher une coloration non spécifique. Lire les résultats après 5 minutes. Si au bout de 5 minutes, aucune couleur n'est visible, l'échantillon est négatif.
- Il convient de toujours comparer les résultats aux témoins positifs et négatifs.
- Ne pas utiliser le kit après la date de péremption et ne pas mélanger les éléments provenant de lots différents.
- Conserver le kit à une température comprise entre +2°C et +8°C. Avant utilisation, ramener les éléments du kit à température ambiante.

Pour toute question, nous contacter :
SYNBIOTICS EUROPE - 2 rue Alexander Fleming
69367 LYON Cedex 07 – France
Tel : 04.72.76.11.11 - Fax : 04.72.76.11.10
www.synbiotics.fr info@synbiotics.fr

POUR USAGE VÉTÉRINAIRE SEULEMENT /
POUR USAGE IN VITRO SEULEMENT