

## USO VETERINÁRIO

**Bioclin<sup>+</sup>Vet**

### VETLISA FeLV Ag

REF VET041

#### INSTRUÇÕES DE USO

##### FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de antígeno p27 do vírus da leucemia felina em soro ou plasma, por ensaio imunoenzimático, em microplaca. Somente para diagnóstico *in vitro*.

##### PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Enzimaimunoensaio ou ensaio imunoenzimático. O VETLISA FeLV Ag é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio "sanduíche" para a detecção qualitativa de antígeno p27 do vírus da leucemia felina (FeLV) em soro ou plasma. A microplaca é revestida com anticorpos monoclonais altamente específicos para antígeno p27 de FeLV. No primeiro momento, a amostra é incubada junto ao Conjugado, formado por anticorpos monoclonais anti-antígeno de FeLV conjugados à peroxidase. Antígenos de FeLV presentes na amostra se ligam aos anticorpos monoclonais específicos para antígeno p27 de FeLV mobilizados na placa e nos anticorpos monoclonais anti-antígeno de FeLV conjugados à peroxidase, formando imunocomplexo: anti-antígeno de FeLV-antígeno de FeLV-anti-antígeno de FeLV conjugado à peroxidase. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Em seguida, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul, que indica a presença de antígenos p27 de FeLV na amostra. 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 anticorpo monoclonal anti-vírus da leucemia viral felina (FeLV).

**2- Conjugado** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução de anticorpo monoclonal anti-antígeno de FeLV, conjugado à Peroxidase.

**3- Lavagem Concentrada (20x)** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão Fosfato, surfactante e conservante.

**4- Substrato TMB** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução contendo Tetrametilbenzidina (TMB), Solução de Ácido Cítrico e Peróxido de Ureia.

**5- Solução de Parada** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Solução de Ácido Sulfúrico 1N.

**6- Controle negativo** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Soro Negativo para leucemia viral felina e conservante.

**7- Controle Positivo** - Armazenar entre 2 e 8°C. Contém: Soro Positivo para leucemia viral felina e conservante.

**8- Seladores de Placa**

##### APRESENTAÇÃO

Componentes	Apresentação		
	1	2	5
	96 cavidades	192 cavidades	480 cavidades
<b>1- Placa Sensibilizada</b>	1 unidade	2 unidades	5 unidades
<b>2- Conjugado</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>3- Lavagem Concentrada</b>	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
<b>4- Substrato TMB</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>5- Solução de Parada</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>6- Controle Negativo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>7- Controle Positivo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>8- Seladores de Placa</b>	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 poiteira 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](http://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 FeLV Ag 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

###### Amostras e Controles

As amostras deverão ser adicionadas direto na placa, não sendo necessário realizar a pré-diluição da amostra.

**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.

###### Conjugado

O Conjugado é pronto para o uso.

###### 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 50 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 50 µL das Amostras nas cavidades previamente determinadas.

**5-** Pipetar 50 µL de Conjugado em cada cavidade, inclusive na cavidade do Branco.

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

**7-** Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.

**8-** Retirar o selador de placa das cavidades.

**9-** 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.

**10-** Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades.

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

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

**13-** Retirar o selador de placa das cavidades.

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

**15-** Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos.

**16-** 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 a especificação 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 o Cut-off de acordo com a seguinte fórmula:

$\text{Cut-off} = \text{Absorbância média do Controle Negativo} + 0,200$
--

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Controle Negativo	0,152
	0,148
$\text{Cut-off} = \text{Absorbância média do Controle Negativo} + 0,200$	$((0,152+0,148) / 2) + 0,200 = 0,350$

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

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	1,538
Valor de Cut-off	0,350
$\text{Índice} = \frac{\text{Abs. da Amostra}}{\text{Valor de Cut-off}}$	$1,538 / 0,350 = 4,39$

**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.

RESULTADOS	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	≥ 0,9 - ≤ 1,1

Observação: Resultado indeterminado indica que a amostra apresentou resposta na zona cinzenta do ensaio, entre os limites de corte, não permitindo confirmar ou excluir a presença de antigenemia por FeLV. Valores intermediários podem ocorrer em fases muito iniciais da infecção, em situações de carga antigênica muito baixa ou por variações pré-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 necessária a realização de PCR para detecção de DNA proviral de FeLV, como método confirmatório. Quando a possibilidade de exposição recente não puder ser excluída e o animal estiver clinicamente estável, a repetição da pesquisa de p27 após aproximadamente 4 a 6 semanas é compatível com a dinâmica de detecção da antigenemia descrita na literatura. 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 Leucemia Felina (FeLV), 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 Imunodeficiência Felina (FIV). 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. Foram obtidos os seguintes resultados:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	1,550	0,750	0,100
Desvio Padrão	0,108	0,044	0,005
Coefficiente de Variação (%)	6,954	5,913	5,119

**Reprodutibilidade**

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

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	1,500	0,723	0,102
Desvio Padrão	0,093	0,043	0,006
Coefficiente de Variação (%)	6,191	5,967	5,398

**SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA**

Este produto foi testado em comparação com outro método imunossorológico. Foram analisadas um total de 131 amostras, sendo 38 amostras diagnosticadas como positivas e 93 diagnosticadas como negativas. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do produto é > 99,9% e a especificidade clínica é 96,8%.

VETLISA FeLV Ag	Método	Referência		Total
	Resultado	Negativo	Positivo	
		Negativo	90	0
	Positivo	3	38	41
	<b>Resultado Total</b>	93	38	131

Sensibilidade Clínica: > 99,9% (38 / 38) - IC 95%: 95%-100%  
 Especificidade Clínica: 96,8% (90 / 93) - IC 95%: 93,24% – 100%  
 Precisão: 97,71% [(90 + 38) / (93 + 38)]

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

A infecção pelo vírus da leucemia felina (FeLV) é causada por um retrovírus do gênero *Gammaretrovirus*, pertencente à subfamília *Orthoretrovirinae*. Após a infecção oronasal, o vírus replica-se em tecidos linfáticos da orofaringe e, na ausência de resposta imune eficaz, alcança a medula óssea, estabelecendo viremia e disseminação sistêmica. A transmissão ocorre principalmente por meio da saliva, durante contatos sociais ou agressivos entre gatos.

O desfecho clínico depende da resposta imunológica do hospedeiro. Na infecção abortiva, o vírus é eliminado antes da viremia; na regressiva, pode haver replicação viral inicial e viremia transitória, seguida pelo controle imunológico que interrompe a produção ativa de partículas virais, resultando na permanência do DNA; e na progressiva, ocorre viremia persistente e eliminação contínua de partículas virais. Gatos com infecção progressiva são os principais disseminadores e apresentam risco aumentado para anemia, imunossupressão, infecções secundárias e neoplasias hematopoiéticas, como linfomas.

O antígeno p27, principal proteína estrutural do capsídeo do FeLV, representa o marcador mais confiável da infecção ativa e é detectável no sangue de gatos virêmicos. Embora possa estar presente de forma transitória em casos de infecção regressiva, sua persistência indica infecção progressiva e correlaciona-se com o potencial de transmissão viral.

Nesse contexto, o VETLISA FeLV Ag destaca-se como uma ferramenta diagnóstica confiável e precisa para a detecção do antígeno p27 do FeLV em soro, plasma ou sangue total. O teste oferece elevada sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, com resultados consistentes que permitem o diagnóstico precoce e auxiliam o Médico Veterinário na tomada de decisões clínicas, no monitoramento de gatos infectados e na implementação de medidas eficazes de controle e prevenção da leucemia felina.

**REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

- 1- American Animal Hospital Association; American Association of Feline Practitioners. 2020 AAHA/AAFP Feline Vaccination Guidelines. Journal of the American Animal Hospital Association, 56(4), 249–265, 2020.
- 2- American Association of Feline Practitioners. 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery, 22, 5–30, 2020.
- 3- Hofmann-Lehmann, R.; Hartmann, K. Feline Leukaemia Virus Infection – ABCD Recommendations and Review of the Literature. European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD), 2021.
- 4- 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 10/12/2019 sob o número 10.290/2019.**

**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		INFLÂMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

#### FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa del antígeno p27 del virus de la leucemia felina en suero o plasma, mediante enzimoimmunoensayo en microplacas. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

#### PRINCIPIO DE ACCIÓN

**Metodología:** Enzimoimmunoensayo o inmunoenzimático  
El VETLISA FeLV Ag es un inmunoensayo enzimático en fase sólida basado en el principio de "sándwich" para la detección cualitativa del antígeno p27 del virus de la leucemia felina (FeLV) en suero o plasma. La microplaca está recubierta con anticuerpos monoclonales altamente específicos para el antígeno p27 del FeLV. Inicialmente, la muestra se incuba con el conjugado, formado por anticuerpos monoclonales anti-FeLV conjugados con peroxidasa. Los antígenos del FeLV presentes en la muestra se unen a los anticuerpos monoclonales específicos para el antígeno p27 del FeLV movilizados en la placa y a los anticuerpos monoclonales anti-FeLV conjugados con peroxidasa, formando un inmunocomplejo: antígeno anti-FeLV-antígeno anti-FeLV-antígeno anti-FeLV conjugado con peroxidasa. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. A continuación, se añade el sustrato y se incuba, obteniéndose una coloración azul que indica la presencia de antígenos p27 del FeLV en la muestra. Se añade la solución de parada para interrumpir la reacción, promoviendo 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 anticuerpo monoclonal contra el virus de la leucemia felina (FeLV).

**2-Conjugado** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución de anticuerpo monoclonal contra el antígeno FeLV, conjugado con peroxidasa.

**3-Lavado Concentrado (20X)** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución de Fosfato de Sodio, tensoactivo y conservante.

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

**5-Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución de Ácido Sulfúrico 1N.

**6-Control Negativo** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Suero negativo para leucemia viral felina y conservante.

**7-Control Positivo** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Suero positivo para leucemia viral felina y conservante.

**8-Selladores de Placa**

#### PRESENTACIÓN

Componentes	Presentación		
	1	2	3
	<b>96 pocillos</b>	<b>192 pocillos</b>	<b>480 pocillos</b>
<b>1- Placa Sensibilizada</b>	1 unidad	2 unidades	5 unidades
<b>2- Conjugado</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>3- Lavado Concentrado</b>	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
<b>4- Sustrato TMB</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>5- Solución de Parada</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>6- Control Negativo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>7- Control Positivo</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>8- Selladores de Placa</b>	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 (hasta 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](http://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 FeLV Ag 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

##### Muestras y Controles

Las muestras deben agregarse directamente a la placa; no es necesaria la dilución previa de la muestra.

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

##### Solución de lavado

Diluir el contenido del Lavado Concentrado (Reactivo N° 3) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Una vez preparada,

## USO VETERINARIO

la solución se puede conservar entre 2 y 30 °C hasta 30 días. Si ocurre cristalización, calentar a 37°C hasta que se disuelva.

#### Conjugado

El conjugado está listo para su uso.

#### 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** 50 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** 50 µL de las muestras en los pocillos previamente determinados.

**5- Pipetear** 50 µL de Conjugado en cada pocillo, incluso en el pocillo del Blanco.

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

**7- Incubar** durante 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.

**8- Retirar** el sellador de placas de los pocillos.

**9- 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.

**10-Pipetear** 100 µL de Sustrato en todos los pocillos.

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

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

**13- Retirar** el sellador de placas de los pocillos.

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

**15-Homogeneizar** suavemente durante ± 10 segundos.

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

## VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

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

ITEM	ABSORBANCIA (FILTRO 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

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

$\text{Cut-off} = \text{Absorbancia promedio del Control Negativo} + 0,200$
---

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo	0,152
	0,148
<b>Cut Off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,200</b>	$((0,152+0,148) / 2) + 0,200 = 0,350$

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

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,538
Valor de Cut-off	0,350
<b>Índice = Abs. de la Muestra / Valor de Cut-off</b>	$1,538 / 0,350 = 4,39$

**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	$\geq 0,9 - \leq 1,1$

**Observación:** Un resultado indeterminado indica que la muestra presentó una respuesta en la zona gris del ensayo, entre los límites de corte, no permitiendo confirmar o excluir la presencia de antigenemia por FeLV. Valores intermedios pueden ocurrir en fases muy iniciales de la infección, en situaciones de carga antigénica muy baja o por variaciones preanalíticas. Se recomienda repetir la prueba, preferentemente utilizando una nueva muestra, con el fin de descartar variabilidad analítica o interferentes. En gatos con riesgo reciente de exposición o sospecha clínica compatible, puede ser necesario realizar una PCR para la detección de ADN proviral de FeLV como método confirmatorio. Cuando no se pueda excluir la posibilidad de exposición reciente y el animal se encuentre clínicamente estable, la repetición de la investigación de p27 después de aproximadamente 4 a 6 semanas es compatible con la dinámica de detección de la antigenemia descrita en la literatura. Hasta que el estado infeccioso sea esclarecido, el gato debe ser considerado potencialmente infeccioso para otros felinos. La interpretación final debe ser realizada por el Médico Veterinario, integrando antecedentes, signos clínicos y exámenes complementarios.

### LIMITACIONES DEL PROCESO

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.

### REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 88 muestras negativas para el Virus de la Leucemia Felina (FeLV), pero positivas para otras infecciones. Se probaron 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 Inmunodeficiencia Felina (FIV). 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 fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

REPETIBILIDAD	ABSORBANCIA		
	1	2	3
Promedio	1,550	0,750	0,100
Desviación estándar	0,108	0,044	0,005
Coefficiente de Variación (%)	6,954	5,913	5,119

##### 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	ABSORBANCIA		
	1	2	3
Promedio	1,500	0,723	0,102
Desviación estándar	0,093	0,043	0,006
Coefficiente de Variación (%)	6,191	5,967	5,398

### SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA

Este producto fue evaluado en comparación con otro método inmunoenzimático. Se analizaron un total de 131 muestras, siendo 38 muestras diagnosticadas como positivas y 93 diagnosticadas como negativas. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del producto es > 99,9% y la especificidad clínica es 96,8%.

Método	Referencia		Total	
	Resultado	Negativo		Positivo
VELTISA FeLV Ag	Negativo	90	0	90
	Positivo	3	38	41
<b>Resultado Total</b>		93	38	131

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (38 / 38) - IC 95%: 95%-100%

Especificidad Clínica: 96,8% (90 / 93) - IC 95%: 93,24% – 100%

Precisión: 97,71% [(90 + 38) / (93 + 38)]

### SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

La infección por el Virus de la Leucemia Felina (FeLV) es causada por un retrovirus del género *Gammaretrovirus*, perteneciente a la subfamilia *Orthoretrovirinae*. Tras la infección oronasal, el virus se replica en los tejidos linfáticos de la orofaringe y, en ausencia de una respuesta inmune eficaz, alcanza la médula ósea, estableciendo viremia y diseminación sistémica. La transmisión ocurre principalmente a través de la saliva, durante contactos sociales o agresivos entre gatos.

El desenlace clínico depende de la respuesta inmunológica del hospedador. En la infección abortiva, el virus se elimina antes de la viremia; en la regresiva, puede haber replicación viral inicial y viremia transitoria, seguida por el control inmunológico que interrumpe la producción activa de partículas virales, resultando en la permanencia del ADN; y en la progresiva, ocurre viremia persistente y eliminación continua de partículas virales. Los gatos con infección progresiva son los principales diseminadores y presentan un mayor riesgo de anemia, inmunosupresión, infecciones secundarias y neoplasias hematopoyéticas, como linfomas.

El antígeno p27, principal proteína estructural de la cápside del FeLV, representa el marcador más confiable de la infección activa y es detectable en la sangre de gatos virémicos. Aunque puede estar presente de forma transitoria en casos de infección regresiva, su persistencia indica infección progresiva y se correlaciona con el potencial de transmisión viral. En este contexto, VETLISA FeLV Ag se destaca como una herramienta diagnóstica confiable y precisa para la detección del antígeno p27 del FeLV en suero, plasma o sangre total. La prueba ofrece alta sensibilidad, especificidad y reproducibilidad, con resultados consistentes que permiten un diagnóstico temprano y ayudan al Médico Veterinario en la toma de decisiones clínicas, en el monitoreo de gatos infectados y en la implementación de medidas efectivas de control y prevención de la leucemia felina.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- American Animal Hospital Association; American Association of Feline Practitioners. 2020 AAHA/AAFP Feline Vaccination Guidelines. Journal of the American Animal Hospital Association, 56(4), 249–265, 2020.

2- American Association of Feline Practitioners. 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery, 22, 5–30, 2020.

3- Hofmann-Lehmann, R.; Hartmann, K. Feline Leukaemia Virus Infection – ABCD Recommendations and Review of the Literature. European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD), 2021.

4- 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 - Indústria Brasileira

### ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

Servicio de Atendimento al Cliente

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

**Producto licenciado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento desde el 10/12/2019 con el número 10.290/2019.**

**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 ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

## VETLISA FeLV Ag

**REF VET041**

### INSTRUCTIONS FOR USE

#### FUNCTION

Test for the qualitative determination of the p27 antigen of the feline leukemia virus in serum or plasma, by microplate enzyme immunoassay. For *in vitro* diagnostic use only.

#### PRINCIPLE OF THE ASSAY

**Methodology:** Enzyme immunoassay or immunoenzymatic assay. The VETLISA FeLV Ag is a solid-phase enzyme immunoassay based on the "sandwich" principle for the qualitative detection of the p27 antigen of the feline leukemia virus (FeLV) in serum or plasma. The microplate is coated with highly specific monoclonal antibodies against the FeLV p27 antigen. Initially, the sample is incubated with the Conjugate, which consists of monoclonal anti-FeLV antigen antibodies conjugated to peroxidase. FeLV antigens present in the sample bind to the monoclonal antibodies specific for the FeLV p27 antigen immobilized on the plate and to the monoclonal anti-FeLV antigen antibodies conjugated to peroxidase, forming an immunocomplex: anti-FeLV antigen – FeLV antigen – anti-FeLV antigen conjugated to peroxidase. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Then, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the presence of FeLV p27 antigen in the sample. The Stop Solution is added to stop the reaction, promoting a change of color from blue to yellow, 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 monoclonal antibody against feline leukemia virus (FeLV).
- 2 – Conjugate** – Store between 2 and 8°C. Contains: Monoclonal antibody solution against FeLV antigen, conjugated to Peroxidase.
- 3 – Concentrated Wash (20x)** – Store between 2 and 8°C. Contains: Phosphate Buffer Solution, surfactant and preservative.
- 4 – Substrate TMB** – Store between 2 and 8°C. Contains: Solution containing Tetramethylbenzidine (TMB), Citric Acid Solution and Urea Peroxide.
- 5 – Stop Solution** – Store between 2 and 8°C. Contains: 1N Sulfuric Acid Solution.
- 6 – Negative Control** – Store between 2 and 8°C. Contains: Negative serum for feline viral leukemia and preservative.
- 7 – Positive Control** – Store between 2 and 8°C. Contains: Positive serum for feline viral leukemia and preservative.
- 8 – Plate Sealers**

#### PRESENTATIONS

Components	Presentation		
	1	2	3
	96 cavities	192 cavities	480 cavities
<b>1- Sensitized Plate</b>	1 unit	2 units	5 units
<b>2- Conjugate</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>3- Concentrated Wash</b>	1 x 50 mL	2 x 50 mL	5 x 50 mL
<b>4- Substrate TMB</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>5- Stop Solution</b>	1 x 12 mL	2 x 12 mL	5 x 12 mL
<b>6- Negative Control</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>7- Positive Control</b>	1 x 1 mL	2 x 1 mL	5 x 1 mL
<b>8- Plate Sealers</b>	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 – Repipettor 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](http://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 DESCRIPTON

##### Stability After Open

The results of the stability test show that the VETLISA FeLV Ag 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

Samples should be added directly to the plate; pre-dilution is not required.

**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.

##### Conjugate

The Conjugate is ready to use.

##### Substrate

The Substrate is ready to use.

## VETERINARY 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 50 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 50 µL of the samples in the previously determined wells.
  - 5– Pipette 50 µL of Conjugate into each well, including the Blank well.
  - 6– Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with plate sealers.
  - 7– Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
  - 8– Remove the plate sealer from the wells.
  - 9– 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.
- 10– Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
  - 11– Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with a plate sealer.
  - 12– Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
  - 13– Remove the plate sealer from the wells.
  - 14– Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
  - 15– Mix gently for approximately 10 seconds.
  - 16– 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 Blank and the Controls are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCE (DUAL 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:

$$\text{Cut-off} = \text{Average absorbance of the Negative Control} + 0.200$$

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Negative Control	0.152
	0.148
<b>Cut-off = Average absorbance of the Negative Control + 0.200</b>	$((0.152 + 0.148) / 2) + 0.200 = 0.350$

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

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.538
Cut-off Value	0.350
<b>Index: Sample Abs. / Cut-off Value</b>	$1.538 / 0.350 = 4.39$

**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 a response in the assay's gray zone, between the cut-off limits, preventing confirmation or exclusion of FeLV antigenemia. Intermediate values may occur in very early stages of infection, in cases of very low antigenic load, or due to pre-analytical variations. It is recommended to repeat the test, preferably using a new sample, to rule out analytical variability or interfering factors. In cats with recent exposure risk or compatible clinical suspicion, PCR for FeLV proviral DNA detection may be required as a confirmatory method. When recent exposure cannot be excluded and the animal is clinically stable, repeating p27 testing after approximately 4 to 6 weeks aligns with the antigenemia detection dynamics described in the literature. Until the infectious status is clarified, the cat should be considered potentially infectious to other felines. Final interpretation should 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.

**CROSS REACTIVITY**

A cross-reactivity study was conducted, evaluating 88 samples that were negative for Feline Leukemia Virus (FeLV) but positive for other infections. The samples included 10 positive for Feline Infectious Peritonitis (FIP), 7 positive for Feline Herpesvirus, 8 positive for Feline Calicivirus, 8 positive for Feline Panleukopenia (Parvovirus), 9 positive for *Mycoplasma haemofelis* (hemoplasmosis), 7 positive for *Bartonella henselae*, 10 positive for Cryptococcosis, 10 positive for Histoplasmosis, 10 positive for Toxoplasmosis, and 10 positive for Feline Immunodeficiency Virus (FIV). No cross-reactivity was observed with any of the samples. Despite these results, the possibility of cross-reactivity cannot be completely excluded. Final diagnosis should consider the patient's clinical data along with other laboratory and clinical information.

**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	1.550	0.750	0.100
Standard Deviation	0.108	0.044	0.005
Coefficient of Variation (%)	6.954	5.913	5.119

**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	1.500	0.723	0.102
Standard Deviation	0.093	0.043	0.006
Coefficient of Variation (%)	6.191	5.967	5.398

**CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY**

This product was tested in comparison with another immunoassay method. A total of 131 samples were analyzed, including 38 samples diagnosed as positive and 93 diagnosed as negative. The results show that the clinical sensitivity of the product is >99.9% and the clinical specificity is 96.8%.

Method	Reference		Total	
	Result	Positive		Negative
VELLISA FeLV Ag	Positive	90	0	90
	Negative	3	38	41
<b>Total Result</b>		93	38	131

Clinical Sensitivity: >99.9% (38 / 38) – 95% CI: 95%–100%  
 Clinical Specificity: 96.8% (90 / 93) – 95% CI: 93.24%–100%  
 Accuracy: 97.71% [(90 + 38) / (93 + 38)]

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Feline leukemia virus (FeLV) infection is caused by a retrovirus of the genus *Gammaretrovirus*, belonging to the subfamily *Orthoretrovirinae*. Following oronasal infection, the virus replicates in lymphoid tissues of the oropharynx and, in the absence of an effective immune response, reaches the bone marrow, establishing viremia and systemic dissemination. Transmission occurs primarily via saliva, during social or aggressive interactions between cats. The clinical outcome depends on the host's immune response. In abortive infection, the virus is eliminated before viremia occurs; in regressive infection, initial viral replication and transient viremia may occur, followed by immune control that halts active viral particle production, resulting in the persistence of viral DNA; and in progressive infection, persistent viremia and continuous shedding of viral particles are observed. Cats with progressive infection are the main spreaders and have an increased risk of anemia, immunosuppression, secondary infections, and hematopoietic neoplasms such as lymphomas. The p27 antigen, the main structural capsid protein of FeLV, represents the most reliable marker of active infection and is detectable in the blood of viremic cats. Although it may be transiently present in cases of regressive infection, its persistence indicates progressive infection and correlates with viral transmission potential. In this context, VETLISA FeLV Ag stands out as a reliable and accurate diagnostic tool for detecting FeLV p27 antigen in serum, plasma, or whole blood. The test offers high sensitivity, specificity, and reproducibility, providing consistent results that enable early diagnosis and assist Veterinarians in clinical decision-making, monitoring of infected cats, and implementation of effective FeLV control and prevention measures.

**BIBLIOGRAPHIC REFERENCES**

- American Animal Hospital Association; American Association of Feline Practitioners. 2020 AAHA/AAFP Feline Vaccination Guidelines. Journal of the American Animal Hospital Association, 56(4), 249–265, 2020.
- American Association of Feline Practitioners. 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery, 22, 5–30, 2020.
- Hofmann-Lehmann, R.; Hartmann, K. Feline Leukaemia Virus Infection – ABCD Recommendations and Review of the Literature. European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD), 2021.
- 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 - Made in Brazil

**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 10/12/2019 under the number 10.290/2019.**

**Technical manager:** Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20611)

**Review:** March/2026

**UNIVERSAL SYMBOLOGY**

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER