



INGEZIM FeLV VET

Prod Ref: 16.FLV.K9-32

Ensayo inmunoenzimático de doble anticuerpo, para la detección del virus de la Leucemia Felina en sueros o plasma de gato

Double antibody immunoenzymatic assay for Feline Leukaemia Virus antigen (FeLV) detection in sera or plasm samples

Ultima revision / Last revision: 07-03-08

COMPOSICION DEL KIT
KIT COMPOSITION

Reactivo Reagent	1 placa (8x4 pocillos) 1 plate box (8x4 wells)	
	Uni.	Vol.
Tiras de 8 pocillos (divisibles), que permiten la utilización parcial del kit, plaqueadas con un anticuerpo monoclonal específico frente al FeLV divisibles strips of 8 wells each one coated with a monoclonal antibody for FeLV	1	-
Gotero suero Control Positivo a la dilución de uso Dropper positive control serum, ready to use	1	1,5 ml
Gotero suero Control Negativo a la dilución de uso Dropper negative control serum, ready to use	1	1,5 ml
Gotero conjugado específico, a la dilución de uso Dropper of peroxidasa conjugate ready to use	1	3 ml
Gotero cromógeno a la dilución de uso Dropper of chromogen solution ready to use	1	3 ml
Gotero sustrato a la dilución de uso Dropper of substrate solution ready to use	1	3 ml
Bote solución de lavado concentrada 10x Bottle 10x concentrated washing solution	1	60 ml
Pipetas desechables para dispensar los sueros Plastic pipettes for dispensing the samples	32	-

I. FUNDAMENTO TECNICO DEL KIT

Nuestro kit se basa en la técnica del inmunoensayo enzimático de doble anticuerpo cuyo fundamento se detalla a continuación:

Las placas se suministran tapizadas con un anticuerpo monoclonal específico frente al virus de la Leucemia Felina. Cuando sobre las placas se dispensan las muestras de suero, en el caso de que éstas contengan partículas virales, serán capturadas por el

anticuerpo monoclonal de la placa.

A continuación, se añade otro anticuerpo monoclonal anti-Felv marcado con peroxidasa, que se unirá al antígeno y tras eliminar el material no adherido, podrá revelarse la presencia o no del conjugado mediante la adición de un cromógeno y sustrato adecuado.

II. PRECAUCIONES:

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

III. CONSERVACION DEL KIT:

Todos los reactivos suministrados, deberán mantenerse en refrigeración (entre 4 y 8°C), hasta su utilización.

IV. INFORMACION SOBRE EL MODO DE REALIZAR LOS LAVADOS:

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

- Ⓜ Eliminar el contenido de la placa volcándola bruscamente para evitar el intercambio de fluidos entre los pocillos.
- Ⓜ Distribuir la solución de lavado de forma uniforme y con cierta presión sobre los pocillos a utilizar. Dosificar la Solución de Lavado, según número de pocillos usados.
- Ⓜ Volcar la placa bruscamente para vaciar su contenido.
- Ⓜ Repetir el proceso cuantas veces sea indicado en el procedimiento.
- Ⓜ Antes de eliminar el contenido del último lavado, asegurarse de tener preparado el reactivo a utilizar inmediatamente. No debe mantenerse la placa en seco.
- Ⓜ Tras el último lavado, sacudir la placa boca abajo sobre un papel de filtro absorbente.

V. PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

Para el ensayo de los sueros, no es preciso más que el dispensar una gota de suero con ayuda de las pipetas que se adjuntan (sin diluciones previas).

VI. PREPARACION DE REACTIVOS:

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

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

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

VII. PROCEDIMIENTO:

1. Llevar todos los reactivos del kit a temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo.
2. Añadir **1 gota** de los sueros problema a cada pocillo, con ayuda de las pipetas suministradas. De los controles + y -, se pondrá **1 gota** en los pocillos elegidos para ello. Seguidamente, añadir **1 gota** de conjugado a todos los pocillo, en el mismo orden en que se adicionaron los sueros y controles.
3. Agitar con ayuda del marco unos **10 segundos**. Cubrir e incubar **5 minutos a temperatura ambiente**.
4. **Lavar 5 ó más veces** según instrucciones anteriores.
5. Añadir **1 gota** de cromógeno a todos los pocillos. A continuación, añadir **1 gota** de sustrato en el mismo orden. Mantener la reacción durante **5 minutos a temperatura ambiente** y proceder a la lectura de resultados..

VIII. LECTURA E INTERPRETACION DE RESULTADOS:

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

Validación del ensayo:

Tomamos para ello como referencia los controles.

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

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

Interpretación de resultados:

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

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

I. TECHNICAL BASIS

The kit is based on a **Double antibody sandwich enzymatic immunoassay**. This technique shows big advantages from the rest of the technique used till now: more sensitivity, more specificity, faster to do and easily automatizable.

Here we describe the technical basis of the assay: and specific monoclonal antibody (Mab) against FeLV is coated on a solid support (polystyrene plate). When a sample containing viral antigen is added, the Mab will catch the viral particles. After, we add a second specific Mab to FeLV that is

conjugated to HRPO (Mab-peroxidase). After incubation we could demonstrate the presence of this conjugate Mab by adding a chromogenic substrate that in presence of the enzyme will produce a colorimetric reaction.

The use of these very specific and stable Mabs, warrants the objectivity, specificity, safety and accuracy of the assay.

The coating Mab as well as the conjugate Mab, are very specific Mabs that allows the specific detection of FeLV.

II. PRECAUTIONS AND WARNING FOR USERS:

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

III. STORAGE CONDITIONS:

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

IV. INFORMATION ABOUT THE WASHING STEPS:

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

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

- Throw out the content of the plate by a brusque turn over of the plate to avoid the possible mixture of the content from one well to another.
- Dispense the washing solution (prepared following instructions), proportionally to the wells used.
- Shake delicately the plate, avoiding the contamination between wells.
- Turn over the plate brusquely to empty the wells.
- Repeat the process as much times as is indicated on the instructions of the kit.

- Prior to empty the content of the last washing step, verify that the next reagent to be added to the plate is ready to use.
- Do not maintain the plate on dry more time than strictly needed.
- After the last step of washing shake the plate turned over an absorbent filter paper.

V. PREPARATION OF SAMPLES:

It is not necessary any previous dilution. Add directly 1 drop of the samples to each well.

VI. PREPARATION OF REAGENTS:

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

WASHING SOLUTION PREPARATION: ®
Dilute one part of the concentrate washing solution provided in the kit into 9 parts of

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

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

VII. TEST PROCEDURE:

1. Take out all the reagents and the strips or wells to be used and keep it at room temperature before starting the test.
2. Add **1 drop** of positive and negative control on two different wells. Add **1 drop** of each sera sample to test on each remainder wells using one different pipette for each one.
Add **1 drop** of conjugate to each well (Controls and samples). shake the frame softly for some seconds. Seal the plate and incubate for **5 minutes at room temperature.**
3. **Wash 5 or more times** following the described procedure.
4. Add **1 drop** of chromogen solution, to each well and **1 drop** of substrate solution in the same way. Keep the plate for **5 min at room temperature.**
Read the results.

VIII. READING AND INTERPRETAION OF THE RESULTS:

The reading must be done by visual colour turn detection.

Kit validation:

We take the controls like reference.

- **Negative control:** There is no colour turn detection (transparent).
- **Positive control:** There is colour turn detection (blue).

Results Interpretation:

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



Developed and manufactured in Spain by:

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

Distributed in

by:

