



**Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit**

**Trousse de détection d'antigène du virus  
de la leucose aviaire**

**Kit para Detecção de Antígeno do Vírus  
da Leucose Aviária**

USO VETERINÁRIO

**Kit para la detección de Antígeno del  
Virus de la Leucosis Aviar**

**Testkit zum Nachweis von Antigen des  
Aviären Leukosevirus**

IDEXX **ALV Ag**

06-01154-16

Test With Confidence™

**IDEXX**



# Avian Leukosis Virus Antigen Test Kit

For veterinary use only.

## Name and Intended Use

IDEXX ALV Ag is an enzyme immunoassay from IDEXX for the detection of avian leukosis virus Antigen p27 in chicken serum, cloacal swabs or albumin samples.

## General Information

Avian leukosis viruses (ALV) produce a variety of neoplastic diseases including lymphoid leukosis, erythroblastosis, myelocytomatosis, and others.<sup>1</sup> The major gs antigen, p27, is highly conserved across ALV subgroups (A,B,C,D,E and J) and the detection of this antigen is the basis for the ALV-Ag test. Exogenous ALVs can be transmitted horizontally, from bird to bird by direct or indirect contact, or vertically, from an infected hen to progeny. Viremia in the hen is strongly associated with congenital transmission of the virus through shedding into egg albumen. Endogenous leukosis virus sequences are present in the genome of most normal chicken lines.<sup>2</sup>

## Descriptions and Principles

This assay is designed to detect p27, an antigen common to all subgroups of ALV including endogenous viruses. The recommended sample types are light albumin and cloacal swab samples. **While serum has been validated for use on the ALV-Ag test, it is not a recommended sample for the detection of exogenous virus because of potential interference from endogenous sequences.**<sup>3</sup> A microtitration format has been developed in which anti-p27 antibody is coated onto 96-well plates. Sample p27 forms a complex with the coated antibody. After washing away unbound material, an anti-p27:HRPO conjugate is added, which binds to attached p27 in the well. In the final step of the assay, unbound conjugate is washed away and enzyme substrate is added to the well. Color development may then be related to the amount of p27 present in the test sample. Because of the viscosity of albumin samples, a modified sample handling/wash protocol is described as a second procedure in this insert.

Reagents		Volume
1	Anti-p27 Antibody Coated Plate	5
2	Positive Control — inactivated virus in buffer with protein stabilizers; preserved with sodium azide	1 x 1.9 mL
3	Negative Control — buffer with protein additives non-reactive for p27; preserved with sodium azide	1 x 1.9 mL
4	Conjugate — (rabbit) anti-p27: HRPO Conjugate; preserved with gentamicin and Proclin	1 x 50 mL
5	Sample Diluent — buffer, with protein stabilizers; preserved with sodium azide	1 x 235 mL
A	TMB Substrate	1 x 60 mL
B	Stop Solution	1 x 60 mL
C	Albumin Wash Concentrate (20X) — (for albumin wash protocol); preserved with gentamicin	1 x 235 mL

**Note:** See table at the end of the insert for a description of symbols used on the insert and labels of this kit.

## Storage

Store the reagents at 2–8°C. Reagents are stable until expiration date, provided they have been stored properly.

## Materials Required but Not Provided

- Precision micropipettes and multi-dispensing micropipettes
- Disposable pipette tips
- Graduated cylinder for wash solution
- 96-well microplate reader (equipped with 650 nm filter)
- Microplate washer (manual, semi-automatic or automatic system)
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test
- Vortex or equivalent

## Precautions and Warnings

- Handle all biological material as potentially infectious. The antigen used in the kit reagents may not be completely inactivated.
- Wear protective gloves / protective clothing / eye or face protection when handling samples and reagents.
- Refer to the product Material Safety Data Sheet for additional information.
- See the end of this insert for reagent hazard and precaution warnings.

## Laboratory Practices

- Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. Careful pipetting, timing, and washing throughout this procedure are necessary to maintain precision and accuracy. Use a separate pipette tip for each sample and control.
- Do not expose TMB solution to strong light or any oxidizing agents. Handle TMB solution with clean glass or plastic ware.
- All wastes should be properly decontaminated prior to disposal. Dispose of contents in accordance with local, regional, and national regulations.
- Care should be taken to prevent contamination of kit components. Do not pour unused reagents back into containers.
- Do not use kit past expiration date.

## Preparation of Samples

**Albumin** — collect light albumin and add directly to the plate without prior dilution. Freeze/thaw the sample to help reduce the viscosity.

**Cloacal swabs** — place cloacal swab into 1 mL culture media or sample diluent and freeze. Prior to testing, bring the sample to 18–26°C and allow coarse material to settle. Pipette 100  $\mu$ L of the supernatant directly onto the ELISA plate.

**Serum** — for general detection of p27, the sample is added directly to the well without prior dilution. Testing of serum samples for exogenous derived p27 is not recommended because of interference from endogenous virus.

## Test Procedure (For Samples Other Than Albumin)

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use. Mix reagents by gentle inverting or swirling.

- 1 Obtain antibody-coated plate(s) and record the sample position.

---
- 2 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of UNDILUTED Negative Control (NC) into duplicate wells.

---
- 3 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of UNDILUTED Positive Control (PC) into duplicate wells.

---
- 4 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of sample into appropriate wells. Samples may be tested in duplicate, but a single well is acceptable. None of the samples are DILUTED for testing.

---
- 5 Cover the plates and incubate for 60 minutes ( $\pm$  5 minutes) at 18–26°C.

---
- 6 Remove the solution and wash each well with approximately 350  $\mu\text{L}$  of distilled or deionized water 3–5 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.

---
- 7 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Conjugate into each well.

---
- 8 Cover the plates and incubate for 60 minutes ( $\pm$  5 minutes) at 18–26°C.

---
- 9 Repeat step 6.

---
- 10 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of TMB Substrate into each well.

---
- 11 Cover the plates and incubate for 15 minutes ( $\pm$  1 minute) at 18–26°C.

---
- 12 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Stop Solution into each well.

---
- 13 Measure and record absorbance values at 650nm, A(650).

**Albumin Wash Protocol** – Light albumin samples are sometimes difficult to completely wash from the wells with the standard water wash protocol. A Wash Concentrate (20X) is provided with the kit for use with albumin samples.

**Preparation of Wash Solution** – The Wash Concentrate (20X) should be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The albumin wash solution is prepared by diluting the Wash Concentrate (20X) 1 to 20 with distilled/deionized water before use (e.g., 20 mL of Wash Concentrate (20X) added to 380 mL of water for 1 plate).

**Albumin Wash Procedure** – The albumin test procedure is the same as described above with the exception of the wash steps (#6, #9). Aspirate control and test albumin sample wells and wash with approximately 350  $\mu$ L of wash solution. Allow wells to soak for 2 minutes; aspirate liquid contents; repeat four more times without the 2–minute soak.

---

**14** Calculations:

**Controls**

$$NC\bar{x} = \frac{NC1 A(650) + NC2 A(650)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{PC1 A(650) + PC2 A(650)}{2}$$

**Validity criteria**

$$PC\bar{x} - NC\bar{x} > 0.200$$

$$NC\bar{x} \leq 0.150$$

For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert.

**Samples**

$$S/P = \frac{\text{Sample Mean} - NC\bar{x}}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

The presence or absence of p27 antigen is determined by relating the A(650) value of the sample to the Positive Control mean. The Positive Control has been standardized and represents significant antigen levels (approx. 10 ng/mL). The relative level of antigen in the sample can be determined by calculating the sample to positive (S/P) ratio.

---

**15** Interpretation:

Negative

Positive

$$S/P \leq 0.20$$

$$S/P > 0.20$$

**Note:** IDEXX has instrument and software systems available which calculate results and provide data summaries.

## **Bibliography**

1. Payne LN, Fadly AM. 1997. Leukosis/Sarcoma Group in Diseases of Poultry, 10th Ed. B.W. Calnek ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1997:414-466.
2. Crittenden LB 1981. Exogenous and endogenous leukosis virus genes—A review. Avian Pathology. 1981;10:101-112.
3. Payne LN, Gillespie AM, Howes K. 1993. Unsuitability of chicken sera for detection of exogenous ALV by the group-specific antigen ELISA. Veterinary Record. May 1993:555-557.

### **For technical assistance:**

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 or +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Contact your IDEXX area manager or distributor or visit our website: [idexx.com/contactlpd](http://idexx.com/contactlpd)

U.S. Vet. License No. 313

Product Code: 5007.00

IDEXX and Test With Confidence are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.



# Trousse de détection d'antigène du virus de la leucose aviaire

Réservé à l'usage vétérinaire.

## Définition et application

La trousse IDEXX ALV Ag est une épreuve immuno-enzymatique pour la détection de l'antigène p27 du virus de la leucose aviaire à partir d'écouillons cloacaux, de sérum ou d'albumen chez les poulets.

## Informations Générales

Les virus de la leucose aviaire (ALV) induisent une variété de maladies néoplasiques telles que la leucose lymphoïde, érythrocytaire, myéloïde et autres.<sup>1</sup> La protéine p27, principal antigène, est hautement conservée à travers les sous-groupes de ALV (A, B, C, D, E et J) et le principe de l'épreuve ALV-Ag repose sur sa détection. Les ALV exogènes peuvent être transmis horizontalement, d'un oiseau à un autre par contact direct ou indirect, ou verticalement, d'une poule infectée à sa progéniture. Chez la poule, la phase virémique s'accompagne de la transmission congénitale du virus par excrétion dans l'albumen de l'oeuf. Des séquences de virus de la leucose aviaire endogènes sont présentes dans le génome de la plupart des lignées normales de poulets.<sup>2</sup>

## Description et principe

Cette trousse permet la détection de p27, antigène viral commun à tous les sous-groupes de ALV y compris les virus endogènes. Les échantillons de choix sont l'albumen ou l'écouillon cloacal. **Bien que l'épreuve ALV-Ag ait été aussi validée à partir du sérum, son usage est déconseillé pour la détection de virus exogènes à cause d'une interférence possible avec des séquences endogènes.**<sup>3</sup> Il s'agit d'un ELISA indirect qui utilise des microplaques sensibilisées avec des anticorps anti-p27. Après incubation de l'échantillon à tester dans la microplaque sensibilisée, la protéine p27, si elle est présente, forme un complexe Ag-Ac avec les anticorps préalablement fixés sur la phase solide. Le matériel non fixé est ensuite éliminé par lavage et un conjugué anti-p27:HRPO est ajouté qui vient se lier à la protéine p27 de l'échantillon préalablement fixée. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage avant addition de la solution substrat TMB. Le développement de coloration qui en résulte est directement proportionnel à la quantité de protéine p27 présente dans l'échantillon. Étant donné leur viscosité, les échantillons d'albumen font l'objet d'un protocole de lavage particulier décrit dans le mode opératoire.

Réactifs		Volume
1	Microplaques sensibilisées avec des Ac anti-p27	5
2	Contrôle positif — ALV inactivé dans un tampon stabilisé avec des protéines; conservateur: azoture de sodium	1 x 1,9 ml
3	Contrôle négatif — tampon stabilisé avec des protéines non réactives à la p27; conservateur: azoture de sodium	1 x 1,9 ml
4	Conjugué — conjugué anti-p27 (lapin): HRPO; conservateurs: gentamicine et Proclin	1 x 50 ml
5	Diluant des échantillons — tampon stabilisé par des protéines; conservateur: azoture de sodium	1 x 235 ml
A	Substrat TMB	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt	1 x 60 ml
C	Concentré de lavage (20X)–Albumen — spécifique aux échantillons d'albumen; conservateur: gentamicine	1 x 235 ml

**Remarque:** voir le tableau à la fin du mode d'emploi pour la description des symboles utilisés dans ce mode d'emploi et sur les étiquettes de la trousse.

## Conservation

Conserver les réactifs à 2–8°C. Les réactifs sont stables jusqu'à leur date de péremption à condition d'être conservés correctement.

## Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision ou pipettes multicanaux
- Embouts de pipette à usage unique
- Éprouvette graduée pour la préparation de la solution de lavage
- Lecteur de plaque 96 puits (équipé d'un filtre à 650 nm)
- Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique
- Utiliser de l'eau distillée ou désionisée pour la préparation des réactifs
- Vortex ou équivalent

## Précautions d'emploi et mises en garde

- Manipuler tout matériel biologique comme étant potentiellement infectieux. Les antigènes utilisés dans les réactifs du kit peuvent ne pas être complètement inactivés.
- Porter des gants de protection / des vêtements de protection / un équipement de protection des yeux ou du visage lors de la manipulation des échantillons et des réactifs.
- Se reporter à la fiche de sécurité du produit pour plus d'informations.
- Voir à la fin du mode d'emploi pour les risques et mesures de prévention liés aux réactifs.

## Pratiques de laboratoire

- Des résultats optimaux seront obtenus en se conformant de manière stricte au protocole fourni. La précision du test dépend des éléments suivants: pipetage, minutage et lavage minutieux au cours de cette procédure. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon et chaque contrôle.
- Ne pas exposer la solution de substrat TMB à la lumière directe du soleil ou à des agents oxydants. Veiller à la propreté de la verrerie et/ou du matériel de laboratoire en matière plastique utilisés lors de sa manipulation.
- Tous les déchets doivent être correctement décontaminés avant leur élimination. Éliminer les contenus selon les réglementations locales, régionales et nationales en vigueur.
- Éviter la contamination des composants du kit. Ne pas verser les réactifs non utilisés de nouveau dans les conteneurs.
- Ne pas utiliser les trousse après leur date de péremption.

## Préparation des échantillons

**Albumen** — Après collecte, les échantillons d'albumen sont directement distribués dans la microplaque sensibilisée sans aucune dilution préalable. Congeler/décongeler les échantillons afin de réduire leur viscosité.

**Écouvillons cloacaux** — Placer l'écouvillon cloacal dans un tube contenant 1 ml de milieu de culture ou de diluant de l'échantillon et congeler. Amener l'échantillon à la température ambiante (18–26°C) et laisser décanter le prélèvement préalablement au test proprement dit. Distribuer 100 µl de surnageant dans la microplaque sensibilisée.

**Sérum** — Pour une détection générale de la protéine p27, l'échantillon est directement distribué dans la microplaque sensibilisée sans aucune dilution préalable. Il est déconseillé d'utiliser le sérum pour la détection de la p27 exogène à cause des interférences possibles avec les virus endogènes.

## Mode opératoire (Pour les échantillons autres que l'albumen)

Porter tous les réactifs à 18–26°C avant utilisation et bien homogénéiser par agitation douce ou inversion.

- 1 Réserver le nombre de plaques nécessaires à la manipulation et noter la position des échantillons.

---
- 2 Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de contrôle négatif (CN) NON DILUÉ dans deux cupules.

---
- 3 Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de contrôle positif (CP) NON DILUÉ dans deux cupules.

---
- 4 Distribuer 100  $\mu\text{l}$  d'échantillon dans les puits disponibles adjacents. Les échantillons peuvent être testés en double mais un test en simple est acceptable. Aucun échantillon n'est DILUÉ pour le test.

---
- 5 Couvrir les plaques et incuber pendant 60 minutes ( $\pm$  5 minutes) à 18–26°C.

---
- 6 Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 3–5 fois chaque puits avec environ 350  $\mu\text{l}$  d'eau distillée ou désionisée. Éviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif. Après le dernier lavage, vider le liquide résiduel contenu dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant.

---
- 7 Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de conjugué dans chaque cupule.

---
- 8 Couvrir les plaques et incuber pendant 60 minutes ( $\pm$  5 minutes) à 18–26°C.

---
- 9 Répéter l'étape 6.

---
- 10 Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de substrat TMB dans chaque cupule.

---
- 11 Couvrir les plaques et incuber pendant 15 minutes ( $\pm$  1 minute) à 18–26°C.

---
- 12 Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de solution d'arrêt dans chaque cupule.

---
- 13 Mesurer les valeurs de densité optique des échantillons et des contrôles à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 650 nm, A(650).

**Protocole de lavage pour l'albumen** – Il est quelquefois difficile de laver correctement les puits contenant des échantillons d'albumen avec la simple eau distillée ou désionisée préconisée par le protocole standard. Une solution de lavage concentrée (20X) spécifique aux échantillons d'albumen est fournie avec la trousse.

**Préparation de la solution de lavage** – Le concentré de lavage (20X) doit être amené à 18–26°C et bien homogénéisé pour assurer la dissolution des cristaux et des sels précipités qu'il contient. Diluer le concentré de lavage (20X) au 1/20 avec de l'eau distillée ou désionisée (ex: 20 ml de concentré de lavage (20X) + 380 ml d'eau distillée/plaque).

**Mode opératoire pour l'albumen** – Le mode opératoire pour l'albumen est semblable à celui décrit ci-dessus à l'exception des étapes de lavage # 6 et # 9. Après incubation des échantillons et des contrôles dans la microplaque sensibilisée, éliminer le liquide contenu dans la plaque, laver chaque puits avec approximativement 350 µl de solution de lavage et réaliser un trempage de 2 minutes. Poursuivre avec 4 cycles de lavage consécutifs (sans trempage).

---

#### 14 Calculs:

##### Contrôles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(650) + CN2 A(650)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(650) + CP2 A(650)}{2}$$

---

##### Critères de validité

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} > 0,200$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

Si le test est invalide, la technique doit être suspectée et le test répété en suivant scrupuleusement le mode opératoire.

---

##### Échantillons

$$E/P = \frac{\text{Moyenne de l'échantillon} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

La présence ou absence d'antigène p27 est établi à l'aide du rapport entre l'absorbance A(650) de l'échantillon et du contrôle positif. Le contrôle positif est standardisé et contient un niveau significatif d'antigène (environ 10 ng/L). Le niveau relatif d'antigènes présents dans l'échantillon est calculé selon le rapport E/P.

---

#### 15 Interprétation:

Négatifs

Positifs

$$E/P \leq 0,20$$

$$E/P > 0,20$$

**Remarque:** IDEXX fournit équipements et logiciels pour le calcul des résultats et la synthèse des données.

## **Bibliographie**

1. Payne LN, Fadly AM. 1997. Leukosis/Sarcoma Group in Diseases of Poultry, 10th Ed. B.W. Calnek ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1997:414-466.
2. Crittenden LB 1981. Exogenous and endogenous leukosis virus genes—A review. Avian Pathology. 1981;10:101-112.
3. Payne LN, Gillespie AM, Howes K. 1993. Unsuitability of chicken sera for detection of exogenous ALV by the group-specific antigen ELISA. Veterinary Record. May 1993:555-557.

### **Pour l'assistance technique:**

IDEXX É.-U. Tél.: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tél.: +800 727 43399

Contactez votre responsable de secteur IDEXX votre distributeur ou visitez notre site web:  
[idexx.com/contactlpd](http://idexx.com/contactlpd)

Perm. vét. des É.-U. N° 313

Code de produit: 5007.00

IDEXX et Test With Confidence sont des marques de commerce ou des marques déposées d'IDEXX Laboratories, Inc. ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

## Kit para Detecção de Antígeno do Vírus da Leucose Aviária

Para uso exclusivamente veterinário.

### Nome e Indicações

IDEXX ALV Ag é um ensaio imunoenzimático da Idexx para a detecção de antígeno p27 do vírus de Leucose Aviária em soro de galinhas, suabe de cloaca ou amostra de albumina.

### Informações Gerais

Os vírus da leucose aviária produzem uma variedade de doenças neoplásicas incluindo leucose linfóide, eritroblastose, mielocitomatose, e outros.<sup>1</sup> O principal antígeno gs, p27, é altamente conservado entre os subgrupos de ALV (A,B,C,D,E e J) e a detecção desse antígeno é a base para o teste de ALV-ag. ALVs exógenos podem ser transmitidos horizontalmente, de ave a ave por contato direto ou indireto, ou verticalmente, de uma galinha infectada para a progênie. A viremia na galinha é altamente associada com transmissão congênita do vírus através da presença na albumina do ovo. As sequências do vírus da leucose endógena estão presentes no genoma da maioria das linhagens de aves normais.<sup>2</sup>

### Descrição e Princípios

Este ensaio é designado para detectar p27, um antígeno comum a todos os subgrupos de ALV incluindo vírus endógenos. Os tipos de amostras recomendados são amostras de albumina leve e suabe cloacal. **Apesar do soro ter sido validado para uso no teste de ALV-ag, não é uma amostra recomendada para a detecção de vírus exógeno devido a uma potencial interferência de sequências endógenas.**<sup>3</sup> Um formato de microtitulação foi desenvolvido no qual anticorpos anti-p27 são impregnados em placas de 96 cavidades. O antígeno p27 da amostra forma um complexo com os anticorpos impregnados. Após a lavagem de material não reagente da cavidade, um conjugado é adicionado, o qual se aglomera ao antígeno preso nas cavidades. O conjugado não reagente é lavado e um substrato enzimático é adicionado. O subsequente desenvolvimento de cor é diretamente relacionado à quantidade de p27 presente na amostra de teste. Devido à viscosidade das amostras de albumina, um protocolo modificado de manejo/lavagem das amostras é descrito como um segundo procedimento neste inserte.

**Reagentes****Volume**

	<b>Reagentes</b>	<b>Volume</b>
1	Placa Impregnada com Anticorpos anti-p27	5
2	Controle Positivo — vírus inativado tamponado com estabilizantes de proteínas; conservado com azida sódica	1 x 1,9 ml
3	Controle Negativo — tamponado com proteínas aditivas não reativas para p27; conservado com azida sódica	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado HRPO: Anti-p27 (coelho), conservado com gentamicina e Proclin	1 x 50 ml
5	Diluyente de Amostra — tamponado, conservado com azida sódica	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml
B	Solução de Interrupção	1 x 60 ml
C	Concentrado de Lavagem (20X) — Albumina (para o protocolo de lavagem da albumina), conservado com gentamicina	1 x 235 ml

**Nota:** Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados no inserte e nos rótulos deste kit.

**Armazenagem**

Conservar os reagentes a 2–8°C. Os reagentes são estáveis até a data de validade, desde que sejam devidamente conservados.

**Materiais Necessários, mas Não Fornecidos**

- Micropipetas de precisão e micropipetas multicanal
- Ponteiras de pipeta descartáveis
- Proveta graduada para a solução de lavagem
- Leitor de placas para 96 cavidades (equipado com filtro 650 nm)
- Lavador de microplaca (sistema manual, semi-automático ou automático)
- Usar somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste
- Vórtex ou equivalente



## Precauções e Advertências

- Manipular todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes. O antígeno utilizado nos reagentes do kit pode não estar completamente inativado.
- Usar luvas de proteção / vestuário / proteção para olhos ou rosto ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar a Ficha de Segurança do produto para informações adicionais.
- Ver no final do protocolo para os perigos e medidas de prevenção relacionados com os reagentes.

## Práticas laboratoriais

- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo deste teste. Pipetagem cuidadosa, observação dos tempos de incubação e lavagens corretas durante todo o procedimento são necessários para manter a precisão e acurácia. Usar uma ponteira diferente para cada amostra e controle.
- Não expor a solução de TMB à luz forte ou a agentes oxidantes. Manusear a solução de TMB em recipientes limpos de vidro ou plástico.
- Todos os resíduos devem ser descontaminados adequadamente antes do descarte. Descartar os conteúdos de acordo com as normas locais, regionais e nacionais.
- Ter cuidado para evitar a contaminação dos componentes do kit. Não devolver a sobra do reagente ao frasco.
- Não utilizar kits com prazo de validade vencido.

## Preparação dos Amostras

**Albumina** – colete albumina leve e adicione diretamente à placa sem diluição prévia. Congele/descongele a amostra para ajudar a reduzir a viscosidade.

**Suabes cloacais** – coloque o suabe cloacal em 1 ml do meio de cultura ou diluente da amostra e congele. Antes de testar, deixe que as amostras cheguem a 18–26°C e permita que o material denso decante. Pipete 100  $\mu$ l do sobrenadante diretamente na placa de ELISA.

**Soro** – para a detecção geral de p27, a amostra deve ser adicionada diretamente à cavidade sem diluição prévia. O teste de amostras de soro para derivado p27 exógeno não é recomendado devido à interferência do vírus endógeno.

## **Procedimento de Teste (Para outras amostras que não albumina)**

Permitir que os reagentes atinjam 18–26°C, então mesclar gentilmente através de inversão ou movimentos circulares leves.

- 1** Obter a(s) placa(s) impregnada(s) com antígeno e registrar a posição da amostra.

---

- 2** Distribuir 100 µl de Controle Negativo (CN) NÃO DILUÍDO em duplicata.

---

- 3** Distribuir 100 µl de Controle Positivo (CP) NÃO DILUÍDO em duplicata.

---

- 4** Distribuir 100 µl da amostra nas cavidades apropriadas. As amostras podem ser testadas em duplicata, mas uma única cavidade por amostra é aceitável. As amostras não devem ser DILUÍDAS para o teste.

---

- 5** Cobrir a placa e incubar por 60 minutos ( $\pm$  5 minutos) à 18–26°C.

---

- 6** Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar cada cavidade com aproximadamente 350 µl de água destilada ou deionizada por 3–5 vezes. Evitar que a placa seque entre as lavagens e antes da adição do próximo reagente. Após a lavagem final, remover o fluido residual de lavagem de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.

---

- 7** Distribuir 100 µl de Conjugado em cada cavidade.

---

- 8** Cobrir a placa e incubar por 60 minutos ( $\pm$  5 minutos) à 18–26°C.

---

- 9** Repetir o passo 6.

---

- 10** Distribuir 100 µl de Substrato TMB em cada cavidade.

---

- 11** Cobrir a placa e incubar por 15 minutos ( $\pm$  1 minuto) à 18–26°C.

---

- 12** Distribuir 100 µl de Solução de Interrupção em cada cavidade.

---

- 13** Medir e registrar valores de absorbância a 650 nm, A(650).

**Protocolo de Lavagem da Albumina** – Amostras de albumina leve são muitas vezes difíceis de serem completamente eliminadas das cavidades com o protocolo de lavagem padrão. Um concentrado de lavagem (20X) é oferecido com o kit para uso com amostras de albumina.

**Preparo da Solução de Lavagem** – O Concentrado de Lavagem (20X) deve estar à 18–26°C e deve ser homogeneizado para garantir a dissolução de qualquer sal precipitado. A solução de lavagem da albumina é preparada diluindo o Concentrado de lavagem (20X) 1 para 20 com água destilada/deionizada antes do uso (por exemplo, 20 ml de concentrado adicionado a 380 ml de água para uma placa).

**Procedimento de Lavagem para Albumina** – O procedimento de teste para albumina é o mesmo descrito acima com a exceção dos passos de lavagem (nº 6, nº 9). Aspire as cavidades dos controles e amostras de albumina e lave com aproximadamente 350 µl de solução de lavagem. Permita que as cavidades descensem por 2 minutos; aspire o conteúdo líquido, repita mais 4 vezes sem os 2 minutos de descanso.

---

#### 14 Cálculos:

##### Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(650) + CN2 A(650)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(650) + CP2 A(650)}{2}$$

---

##### Critérios de Validade

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} > 0,200$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

Para testes inválidos, deve-se suspeitar da técnica, e o teste deve ser repetido após a revisão cuidadosa do protocolo do produto.

---

##### Amostras

$$A/P = \frac{\text{Média da Amostra} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

A presença ou ausência de antígeno p27 é determinada relacionando-se o valor A(650) da absorbância da amostra não conhecida com a média da absorbância dos Controles Positivos. O Controle Positivo é padronizado e representa níveis significativos de antígeno (aproximadamente 10ng/ml). O nível relativo de antígeno da amostra não conhecida é determinado calculando-se o coeficiente da absorbância da amostra pelo controle positivo (A/P).

---

#### 15 Interpretação:

Negativas

$$A/P \leq 0,20$$

Positivas

$$A/P > 0,20$$

**Nota:** IDEXX Laboratories, Inc. têm instrumentos e software disponíveis para o cálculo de resultados e a elaboração de resumo de dados.

## **Bibliografia**

1. Payne LN, Fadly AM. 1997. Leukosis/Sarcoma Group in Diseases of Poultry, 10th Ed. B.W. Calnek ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1997:414-466.
2. Crittenden LB 1981. Exogenous and endogenous leukosis virus genes—A review. Avian Pathology. 1981;10:101-112.
3. Payne LN, Gillespie AM, Howes K. 1993. Unsuitability of chicken sera for detection of exogenous ALV by the group-specific antigen ELISA. Veterinary Record. May 1993:555-557.

### **Para assistência técnica:**

IDEXX EUA Tel: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contate o representante local ou distribuidor IDEXX ou visite: [idexx.com/contactIpd](http://idexx.com/contactIpd)

### **PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.**

Licenciado no MAPA sob nº 6.294/1998.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO NO BRASIL

IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA. Cotia-SP

R. Santa Clara, nº236, Parque Ind. San José

CEP: 06715-867, CNPJ: 00.377.455/0001-20

Resp.Tec.: Andrea L.C.Frezza CRMV-SP: 30.632

IDEXX e Test With Confidence são marcas ou marcas registradas de IDEXX Laboratories Inc. ou de suas filiais nos Estados Unidos e/ou em outros países.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

## Kit para la detección de Antígeno del Virus de la Leucosis Aviar

Para uso veterinario exclusivo.

### Nombre y uso propuesto

IDEXX ALV Ag es un inmunoanálisis enzimático para la detección del antígeno p27 del virus de la Leucosis Aviar en pollos, utilizando muestras de suero, hisopos cloacales o albumen del huevo.

### Información general

El virus de la Leucosis Aviar (ALV) produce varias enfermedades neoplásicas incluyendo la leucosis linfóide, eritroblastosis, mielocitomatosis y otras.<sup>1</sup> El principal antígeno gs, p27, está altamente conservado en los subgrupos de ALV (A,B,C,D,E y J) y la prueba ALV-Ag está basada en la detección de este antígeno. Las leucosis exógenas pueden transmitirse horizontalmente, de un ave a otra por contacto directo o indirecto, o verticalmente de una madre infectada a la progenie. La viremia en la madre se asocia con la transmisión del virus al albumen del huevo. Secuencias del virus de la leucosis endógena están presentes en el genoma de la mayoría de las líneas de pollos.<sup>2</sup>

### Descripción y principios

Esta prueba está preparada para la detección del p27, un antígeno común a todos los subgrupos de ALV incluyendo los virus endógenos. Las muestras recomendadas son albumen e hisopos cloacales. Aunque la prueba de ALV-Ag se ha evaluado para la utilización con suero, no es una muestra recomendable para la detección de virus exógeno por la potencial interferencia con secuencias endógenas.<sup>3</sup> Se ha desarrollado un formato de microtitulación en el cual las placas de 96 pocillos están tapizadas con anticuerpos anti-p27. La muestra que contenga p27 forma un complejo con el anticuerpo del tapizado. Tras el lavado de los pocillos para eliminar el material no ligado se añade un conjugado HRPO anti-p27 que se une a p27 ligado al pocillo. En el paso final del ensayo, se elimina el conjugado no unido con el lavado y se añade el substrato enzimático a los pocillos. El color que se desarrolla posteriormente puede relacionarse con la cantidad de p27 presente en la muestra. Debido a la viscosidad de las muestras de albumen, se ha descrito una modificación del protocolo de lavado que puede encontrar como un segundo proceso en estas instrucciones.

**Reactivos****Volumen**

	Reactivos	Volumen
1	Placa tapizada con Anticuerpos anti-p27	5
2	Control Positivo — virus inactivado en solución tampón con estabilizantes proteicos; conservado con azida de sodio	1 x 1,9 ml
3	Control Negativo — solución tampón con proteínas, no reactivo a p27; conservado con azida de sodio	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado (Conejo) Anti-p27 HRPO; conservado con gentamicina y Proclin	1 x 50 ml
5	Diluyente de la Muestra — solución tampón con estabilizantes proteicos; conservado con azida de sodio	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml
B	Solución de Frenado	1 x 60 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (20X) — Albúmina; (para el protocolo de lavado del albumen); conservado con gentamicina	1 x 235 ml

**Nota:** Ver tabla al final del protocolo para las explicaciones de los símbolos utilizados en este protocolo y en las etiquetas del kit.

**Almacenamiento**

Almacenar los reactivos a 2–8°C. Los reactivos son estables hasta su fecha de caducidad, siempre y cuando hayan sido almacenados en las condiciones correctas.

**Materiales necesarios que no se suministran**

- Micropipetas de precisión y micropipetas multidispensadoras
- Puntas de pipeta desechables
- Probetas graduadas para la solución de lavado
- Lector de placas de 96 pocillos (equipado con filtros de 650-nm)
- Lavador de placas, manual, semiautomático o automático.
- Usar sólo agua destilada o desionizada para preparar los reactivos de la prueba
- Vortex o equivalente

## Precauciones y advertencias

- Considerar todo material biológico como potencialmente infeccioso cuando se manipule. El antígeno usado en los reactivos del kit puede no estar completamente inactivado.
- Usar guantes de protección / prendas de protección / gafas o protección de la cara al manipular muestras y reactivos.
- Consultar la Ficha de Datos de Seguridad de Materiales del producto para obtener información adicional.
- Consultar al final de este protocolo para los peligros y medidas de prevención relacionados con los reactivos.

## Prácticas de laboratorio

- Los resultados óptimos se obtendrán siguiendo estrictamente este protocolo. El pipeteo cuidadoso, la coordinación y el lavado durante todo este procedimiento son necesarios para mantener la precisión y exactitud. Usar una punta de pipeta diferente para cada muestra y control.
- No exponer las soluciones TMB a la luz fuerte o a cualquier agente oxidante. Manejar el Substrato TMB con material de cristal limpio o material plástico.
- Todos los desechos deben descontaminarse adecuadamente antes de ser eliminados. Desechar el contenido de conformidad con las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Extremar la precaución para evitar la contaminación de los componentes del kit. No verter los reactivos no utilizados de nuevo en contenedores.
- No utilizar los kits pasada su fecha de caducidad.

## Preparación de las muestras

**Albumen** — recoger el albumen y añadirlo directamente a la placa sin realizar dilución previa. Congelar/descongelar las muestras para ayudar a la reducción de viscosidad.

**Hisopo cloacal** — Colocar el hisopo cloacal en 1 ml de medio de cultivo o Diluyente de la Muestra y congele. Antes de realizar la prueba, dejar que la muestra alcance 18–26°C y dejar sedimentar la fracción gruesa. Pipetear 100 µl del sobrenadante y añadirlo directamente a la placa de ELISA.

**Suero** — Para la detección de p27, la muestra se añade directamente al pocillo sin realizar una dilución previa. No se aconseja utilizar el suero para la detección de p27 exógena a causa de posibles interferencias con los virus endógenos.

## Procedimiento de la Prueba (Para muestras que no sean de albumen)

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran 18–26°C antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos suavemente.

- 1 Obtener la placa (o placas) tapizada con anticuerpos y anotar la posición de las muestras.

---
- 2 Dispensar 100  $\mu$ l de Control Negativo (CN) NO DILUIDO por duplicado.

---
- 3 Dispensar 100  $\mu$ l de Control Positivo (CP) NO DILUIDO por duplicado.

---
- 4 Dispensar 100  $\mu$ l de muestra en los pocillos correspondientes. Las muestras pueden analizarse por duplicado pero el análisis en un solo pocillo es también aceptable. Ninguna de las muestras se DILUYE para el análisis.

---
- 5 Cubrir las placas e incubar durante 60 minutos ( $\pm$  5 min.) a 18–26°C.

---
- 6 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 350  $\mu$ l de agua destilada o desionizada 3–5 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, eliminar el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

---
- 7 Dispensar 100  $\mu$ l de Conjugado a cada pocillo.

---
- 8 Cubrir las placas e incubar durante 60 minutos ( $\pm$  5 min.) a 18–26°C.

---
- 9 Repetir el paso 6.

---
- 10 Dispensar 100  $\mu$ l del Substrato TMB en cada pocillo.

---
- 11 Cubrir las placas e incubar durante 15 minutos a ( $\pm$  1 min.) a 18–26°C.

---
- 12 Dispensar 100  $\mu$ l de la Solución de Frenado en cada pocillo.

---
- 13 Medir y anotar los valores de absorbancia a 650 nm, A(650).



**Protocolo de lavado del albumen** – Las muestras de albumen se lavan a veces con dificultad utilizando el protocolo estándar de lavado. Se incluye en el kit una Solución de Lavado Concentrada (20X) para su utilización con muestras de albumen.

**Preparación de la solución de lavado** – Dejar que la Solución de Lavado Concentrada (20X) alcance 18–26°C y mezclar para asegurar la disolución de sales precipitadas. La Solución de Lavado para el albumen se prepara diluyendo la Solución de Lavado Concentrada (20X) 1/20 con agua destilada/desionizada antes de su uso (por ejemplo: 20 ml de la Solución de Lavado Concentrada (20X) añadido a 380 ml de agua por placa).

**Proceso de lavado del albumen** – El proceso de la prueba con albumen es el mismo que el descrito anteriormente con la excepción de los pasos de lavado (#6, #9). Aspirar los controles y las muestras de albumen de los pocillos y lavarlos con aproximadamente 350 ml de la Solución de Lavado. Dejar en remojo los pocillos durante 2 minutos. Aspirar el contenido líquido. Repetir el proceso 4 veces más sin esperar los 2 minutos de remojo.

---

#### 14 Cálculos:

##### Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(650) + CN2 A(650)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(650) + CP2 A(650)}{2}$$

---

##### Criterios de Validación

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} > 0,200$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

En los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica, y el ensayo tiene que repetirse siguiendo una revisión meticulosa del protocolo suministrado con el producto.

---

##### Muestras

$$M/P = \frac{\text{Media de la Muestra} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

La presencia o ausencia del antígeno p27 se determina relacionando el valor de A(650) de la muestra a la media del Control Positivo. El Control Positivo está estandarizado y representa un nivel significativo de antígenos (aproximadamente 10 ng/ml). El nivel relativo de anticuerpos en la muestra se determina calculando el coeficiente muestra a positivo (M/P).

---

#### 15 Interpretación:

Negativo

Positivo

$$M/P \leq 0,20$$

$$M/P > 0,20$$

**Nota:** IDEXX tiene a disposición instrumentos y sistemas de software para el cálculo de resultados y la elaboración de resúmenes de datos.

## **Bibliografía**

1. Payne LN, Fadly AM. 1997. Leukosis/Sarcoma Group in Diseases of Poultry, 10th Ed. B.W. Calnek ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1997:414-466.
2. Crittenden LB 1981. Exogenous and endogenous leukosis virus genes—A review. Avian Pathology. 1981;10:101-112.
3. Payne LN, Gillespie AM, Howes K. 1993. Unsuitability of chicken sera for detection of exogenous ALV by the group specific antigen ELISA. Veterinary Record. May 1993:555-557.

### **Para asistencia técnica:**

IDEXX EE.UU. Tel: +1 800 548 9997 o +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contacte al representante local o distribuidor IDEXX o visite: [idexx.com/contactIpd](http://idexx.com/contactIpd)

N.º de registro: 3012-RD

IDEXX y Test With Confidence son marcas o marcas registradas de IDEXX Laboratories, Inc. o sus filiales en los Estados Unidos de América y/o en otros países.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

## Testkit zum Nachweis von Antigen des Aviären Leukosevirus

Nur zum tierärztlichen Gebrauch.

### Name und Verwendungszweck

IDEXX ALV Ag ist ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von p27 Antigen des Aviären Leukosevirus (ALV-Ag) in Serum-, Albuminproben oder Kloakentupfer-Proben von Hühnern.

### Allgemeine Informationen

Die lymphoide Leukose ist die häufigste Manifestation der Aviären Leukose-/Sarkomaviren, die durch verschiedene Neoplasien wie z.B. Erythroblastose, Myelozytomatose und Myeloblastose charakterisiert ist.<sup>1</sup> Das p27 Antigen ist präsent in allen Leukose-Subgruppen (A, B, C, D, E und J). Infektionen erfolgen horizontal, durch direkten Kontakt der Tiere oder vertikal von der Henne in das Hühnereialbumin. Auch kann eine vertikale Infektion über die Keimzellen durch in die DNA eingelagertes Virus vorkommen. Eine Virämie bei Hennen ist stark assoziiert mit einer kongenitalen Übertragung des Virus. Endogene Leukose-Virussequenzen können im Genom verschiedener Hühnerlinien nachgewiesen werden.<sup>2</sup>

### Beschreibung des Testprinzips

Das Testsystem dient zur quantitativen Bestimmung von p27, einem in allen Subgruppen des Aviären Leukosevirus (ALV) vorhandenem Virusantigen. Zur Untersuchung werden Albumin und Kloakentupfer empfohlen. Die Untersuchung von Serumproben wird nicht empfohlen, da es zur Interferenz mit endogenen Virussequenzen kommen kann.<sup>3</sup> Es wurde ein Mikrotitrationssystem entwickelt, bei dem eine Mikrotiterplatte mit Anti-p27 Antikörpern beschichtet wird. Bei der Inkubation der Probe bildet p27 einen Komplex mit dem Antikörper der Beschichtung. Nachdem ungebundenes Material herausgewaschen wurde, wird ein Anti-p27 Peroxidasekonjugat hinzugefügt, welches sich an vorhandenes p27 bindet. Im letzten Testschritt wird ungebundenes Konjugat herausgewaschen und ein Enzymsubstrat in die Vertiefungen gegeben. Die darauffolgende Farbentwicklung steht in direkter Korrelation zur Menge von p27 in der Probe. Aufgrund der Viskosität von Albuminproben, wurde ein modifiziertes Waschprotokoll hinzugefügt.

## Reagenzien

## Menge

	Reagenzien	Menge
1	Mit Anti-p27 Antikörpern beschichtete Testplatte (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle — inaktiviertes ALV-Ag in Puffer mit Protein stabilisatoren; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 1,9 ml
3	Negative Kontrolle — Puffer mit Protein stabilisatoren, nicht reaktiv für p27; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 1,9 ml
4	Konjugat — (Kaninchen) Anti-p27: HRPO Konjugat Konservierungsstoff: Gentamicin und Proclin	1 x 50 ml
5	Probenverdünnungspuffer — Puffer mit Protein; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 235 ml
A	TMB-Substrat	1 x 60 ml
B	Stopplösung	1 x 60 ml
C	Albumin-Waschkonzentrat (20X) — Konservierungsstoff: Gentamicin	1 x 235 ml

**Hinweis:** Am Ende dieser Gebrauchsinformation befindet sich eine Tabelle, welche die im Text und auf den Etiketten verwendeten Symbole erläutert.

## Lagerung

Reagenzien bei 2–8°C lagern. Bei entsprechender Lagerung sind die Reagenzien bis zum Verfalldatum stabil.

## Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten und Multikanalmikropipetten
- Einweg-Pipettenspitzen
- Graduierter Zylinder für die Waschlösung
- Photometer (für 96 Vertiefungen, ausgestattet mit 650 nm Messfilter)
- Manuelles, halbautomatisches oder automatisches Mikrotiterplatten-Waschsystem
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder demineralisiertes Wasser verwenden
- Vortex-Mischer oder gleichwertiger Mischer

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Alle biologischen Substanzen als potenziell infektiös behandeln. Das in den Reagenzien des Kits verwendete Antigen wurde möglicherweise nicht vollständig inaktiviert.
- Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz oder Gesichtsschutz beim Umgang mit Proben und Reagenzien verwenden.
- Weitere Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten.
- Nähere Informationen zur Reagenziensicherheit und Vorsichtsmaßnahmen befinden sich am Ende der Gebrauchsinformation.

## Laborpraktiken

- Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen und eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. Für jede Probe und Kontrolle eine neue Pipettenspitze benutzen.
- Substrat nicht starkem Licht oder oxidierenden Mitteln aussetzen. Nur saubere Glas- oder Plastikbehälter benutzen.
- Alle Abfälle vor der Entsorgung ordnungsgemäß dekontaminieren. Den Inhalt im Einklang mit den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen entsorgen.
- Eine Verunreinigung der Bestandteile des Testkits sorgfältig vermeiden. Keine unbenutzten Reagenzien zurück in die Originalflaschen schütten.
- Die Bestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums benutzen.

## Vorbereitung der Proben

**Albumin** – Albuminproben werden unverdünnt eingesetzt. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben reduziert die Viskosität der Proben.

**Kloakentupfer** – Die Kloakentupfer in 1 ml Kulturmedium oder Probenverdünnungspuffer geben und die Proben einfrieren. Vor dem Test müssen die Proben auf 18–26°C gebracht werden. 100 µl des Überstandes direkt in die ELISA-Vertiefungen geben.

**Serum** – Serumproben werden unverdünnt eingesetzt. Die Untersuchung von Serumproben wird nicht empfohlen, da es zur Interferenz mit endogenen Virussequenzen kommen kann.

## Testanweisung (Proben außer Albumin)

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf 18–26°C gebracht werden. Die Reagenzien durch leichtes Schütteln mischen.

- 1 Die mit Antigen beschichtete(n) Platte(n) hernehmen und die Position der Proben notieren.

---
- 2 100 µl UNVERDÜNNT negative Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen geben.

---
- 3 100 µl UNVERDÜNNT positive Kontrolle (PK) in zwei Vertiefungen geben.

---
- 4 100 µl Probe in die entsprechenden Vertiefungen geben. Die Proben können im Einfachansatz getestet werden, empfehlenswert ist jedoch, sie im Doppelansatz zu testen. Alle Proben UNVERDÜNNT untersuchen.

---
- 5 Die Platten bedecken und für 60 Minuten ( $\pm$  5 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

---
- 6 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen entfernen und sodann mit etwa 350 µl destilliertem oder demineralisiertem Wasser 3- bis 5-mal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschschritten und der Zugabe des nächsten Reagenz vermeiden. Nach dem letzten Waschen die Platte auf saugfähigem Material ausklopfen, um verbleibende Restflüssigkeit zu entfernen.

---
- 7 100 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.

---
- 8 Die Platten bedecken und für 60 Minuten ( $\pm$  5 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

---
- 9 Schritt 6 wiederholen.

---
- 10 100 µl TMB-Substrat in jede Vertiefung geben.

---
- 11 Die Platten bedecken und für 15 Minuten ( $\pm$  1 Minute) bei 18–26°C inkubieren.

---
- 12 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung geben.

---
- 13 Die Extinktionswerte bei 650 nm, A(650) messen und notieren.

**Hühnereialbuminprotokoll** - Hühnereialbuminproben sind mit destilliertem Wasser manchmal schwierig aus den Vertiefungen herauszuwaschen. Deshalb wird ein Waschkonzentrat (20X) mitgeliefert. Das Waschkonzentrat sollte vor Verwendung auf 18–26°C gebracht werden. Vorhandene Salzkristalle sollten durch Schütteln gelöst werden.

**Herstellen der Waschlösung** - Die Waschlösung für das Albuminprotokoll herstellen, indem das Waschkonzentrat 1/20 mit destilliertem/demineralisiertem Wasser verdünnt wird (z.B. 20 ml Konzentrat zu 380 ml destilliertem Wasser für eine Platte).

**Testanweisung (Albumin)** - Albuminproben werden mit Ausnahme des Waschvorganges (siehe Punkt 6 und 9) wie oben beschrieben untersucht. Hierbei zunächst den flüssigen Inhalt entfernen und 350 µl Waschlösung in jede Vertiefung geben. Die Waschlösung 2 Minuten einwirken lassen und den flüssigen Inhalt entfernen. Den Waschvorgang ohne Verwendung der 2-minütigen Einwirkungszeit viermal wiederholen.

---

#### 14 Berechnungen:

##### Kontrollen

$$NK\bar{x} = \frac{NK1 A(650) + NK2 A(650)}{2}$$

$$PK\bar{x} = \frac{PK1 A(650) + PK2 A(650)}{2}$$

---

##### Validitätskriterien

$$PK\bar{x} - NK\bar{x} > 0,200$$

$$NK\bar{x} \leq 0,150$$

Ungültige Ergebnisse sind möglicherweise auf eine nicht sachgemäße Durchführung zurückzuführen. Der Test sollte nach erneutem, sorgfältigem Durchlesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden.

---

##### Proben

$$P/PK = \frac{\text{Mittelwert der Probe} - NK\bar{x}}{PK\bar{x} - NK\bar{x}}$$

Das Vorhandensein oder Fehlen von p27 Antigen wird festgestellt, indem man den A(650)-Wert des zu testenden Serums mit der positiven Kontrolle vergleicht. Die positive Kontrolle ist genormt und enthält eine signifikante Menge von p27 Antigen (ca. 10 ng/ml). Die relative Menge von p27 in der zu testenden Probe kann festgestellt werden, indem man das Verhältnis der Probe zur positiven Kontrolle P/PK berechnet.

---

#### 15 Interpretation:

Negativ

Positiv

$$P/PK \leq 0,20$$

$$P/PK > 0,20$$

**Hinweis:** IDEXX bietet auch Geräte und Softwaresysteme zur Berechnung der Ergebnisse und zur Datenverarbeitung an.

## Literaturangaben

1. Payne LN, Fadly AM. 1997. Leukosis/Sarcoma Group in Diseases of Poultry, 10th Ed. B.W. Calnek ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1997:414-466.
2. Crittenden LB 1981. Exogenous and endogenous leukosis virus genes—A review. Avian Pathology. 1981;10:101-112.
3. Payne LN, Gillespie AM, Howes K. 1993. Unsuitability of chicken sera for detection of exogenous ALV by the group-specific antigen ELISA. Veterinary Record. May 1993:555-557.

## Technische Unterstützung:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 oder +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Kontaktieren Sie Ihren lokalen IDEXX-Vertreter oder besuchen Sie unsere Webseite:  
[idexx.com/contactlpd](http://idexx.com/contactlpd)

IDEXX und Test With Confidence sind Schutzmarken oder eingetragene Schutzmarken von IDEXX Laboratories, Inc. oder eines Tochterunternehmens von IDEXX in den Vereinigten Staaten und/oder in anderen Ländern.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.



## WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG



H315 / H316 / H319

**Conjugate** – Causes mild skin irritation. If skin irritation occurs: Get medical advice / attention. Contains Proclin. May produce an allergic reaction.

**Conjugué** – Provoque une légère irritation cutanée. En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin. Contient Proclin. Peut produire une réaction allergique.

**Conjugado** – Causa uma irritação suave da pele. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. Contém Proclin. Pode provocar uma reação alérgica.

**Conjugado** – Provoca una leve irritación cutánea. En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. Contiene Proclin. Puede provocar una reacción alérgica.

**Konjugat** – Verursacht milde Hautreizungen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. Enthält Proclin. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.



## Symbol Descriptions / Descriptions des symboles / Descrições do símbolos Descripciones de los símbolos / Symbol-Beschreibungen / Descrizione dei simboli

	Batch Code (Lot) / Numéro de lot / Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote) / Chargenbezeichnung (Ch.-B.) / Codice del lotto (partita)
	Serial Number / Numéro de série / Número de série Número de serie / Seriennummer / Numero di serie
	Catalog Number / Numéro de catalogue / Número de catálogo Número de catálogo / Katalognummer / Numero di catalogo
	In vitro diagnostic / Diagnostic in vitro / Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostico in vitro
	Authorized Representative in the European Community Représentant agréé pour la Communauté européenne Representante autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Autorisierte EG-Vertretung Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Positive Control / Contrôle positif / Controle Positivo Control Positivo / Positive Kontrolle / Controllo Positivo
	Negative Control / Contrôle négatif / Controle Negativo Control Negativo / Negative Kontrolle / Controllo Negativo
	Use by date / À utiliser avant la date / Data de Vencimento Usar antes de / Verwendbar bis / Usare entro
	Date of manufacture / Date de fabrication / Data de Fabricação Fecha de fabricación / Herstellungsdatum / Data di produzione
	Manufacturer / Fabricant / Fabricante Fabricante/ Hersteller / Ditta produttrice
	Temperature limitation / Limite de température Limite de temperatura / Limite de temperatura Zulässiger Temperaturbereich / Limite di temperatura
	Consult instructions for use / Consulter la notice d'utilisation Consulte instruções para o uso / Consultar las instrucciones de uso Gebrauchsinformation beachten / Consultare le istruzioni per l'uso
	Major change in the user instructions Modification majeure du mode d'emploi Modificações importantes nas instruções de uso Modificación importante en el manual de instrucciones Wesentliche Änderung der Gebrauchsinformation Modifica importante nell'inserto tecnico

*Manufacturer*  
IDEXX Laboratories, Inc.  
One IDEXX Drive  
Westbrook, Maine 04092  
USA

*EU-Representative*  
IDEXX Europe B.V.  
P.O. Box 1334  
2130 EK Hoofddorp  
The Netherlands

[idexx.com](http://idexx.com)

**IDEXX**