



바이오노트 CSFV B-항체 엘리자

동물용 체외진단 의료기기

[품목명]

고위험성동물전염병면역검사시약[3]

[형명]

BIONOTE CSFV Ab B-ELISA

[개요]

본 제품은 돼지의 혈청 및 혈장에서 돼지열병바이러스에 대한 항체를 검출하는 엘리자 키트입니다. 유전자 재조합 돼지열병 바이러스 항원을 정제하여 마이크로 플레이트에 코팅하고 이후 검체를 첨가하여 반응시키면 검체 중에 존재하는 항체가 플레이트에 코팅된 항원과 결합, 이후 CSFV 에 대한 마우스 단클론 항체와 HRP 가 접합된 conjugate 를 첨가하여 반응하면 검체의 항체와 결합하지 않은 코팅항원은 conjugate 와 결합하여 발색을, 검체의 항체와 결합한 항원은 conjugate 와 더 이상 결합하지 않아 반응하지 않는 블로킹 원리를 이용하여 CSFV 에 대한 항체 검사가 가능합니다.

[제품의 구성표]

번호	명칭	세부구성	외관상 특징
1	항원 흡착 플레이트	1. 8wells*12 스트립/장 2. 96wells	무색 평면 바닥 형태의 폴리스틸렌 플레이트
2	음성 대조액	단일	연한 파랑 내지 파랑색의 액상 제제
3	양성 대조액	단일	연한 빨강 내지 빨강색의 액상 제제
4	검체 희석액	단일	연한 보라 내지 보라색의 액상 제제
5	농축 세척액(20 배 농축액)	단일	무색 내지 옅은 담황색의 액상 제제
6	접합체액	단일	초록색 내지 진한 초록색의 액상 제제
7	TMB 기질액	단일	갈색 불투명 플라스틱 병에 담겨진 무색 내지 미황색의 액상 제제
8	반응 정지액	단일	무색의 액상 제제
9	플레이트 밀봉테이프		
10	설명서		

[사용 목적]

엘리자 방법에 의한 돼지의 혈청 및 혈장에서의 돼지 열병 바이러스에 대한 항체 검출.

[사용 방법]

1. 검체 준비 및 저장방법

- 1) 돼지의 혈청 혹은 혈장을 검체로 사용할 수 있으나 심하게 용혈된 검체는 쓸 수 없습니다. 혈구나 혈액 응고 성분 등의 고형물이 있는 검체는 비특이 반응을 유발하므로 가능한 사용하지 않습니다.

- 2) 혈청 및 혈장을 2~8 °C에서 보관할 경우 14 일(2 주)까지 본 시약을 이용한 검사에 사용 가능하며, 14 일 이상 보관 시에는 -20 °C에 1 년까지 보관합니다.
- 3) 용혈이 심하거나 미생물에 오염된 검체의 경우는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의합니다.
- 4) 검체 중에 Sodium azide 가 첨가된 경우 결과에 영향(음성 혈청임에도 불구하고 흡광도가 낮아 위양성이 나올 수 있음)을 미칠 수 있으므로 주의합니다.

2. 검사 전 준비사항

- 1) 모든 시약과 검체는 사용 약 30 분 전에 실온(18~25 °C)에 꺼내어 둡니다. 시험 종료까지 제품에 포함된 각종 용액은 실온(18~25 °C)에 두도록 합니다.
- 2) 시험 후 남은 항원 흡착 플레이트는 알루미늄 호일 파우치에 실리카겔 포와 함께 잘 밀봉하여 2~8 °C에서 냉장 보관합니다.
- 3) 검사 시 각종 용액을 덜어 쓰는 용기는 꼭 일회용을 사용하도록 합니다.
- 4) 검체는 사용 전에 충분히 혼합하여 사용합니다.
- 5) 키트의 구성물을 다른 제품 또는 다른 로트의 구성물과 혼용하여 사용하지 않습니다.

6) 시액의 조제

(1) 세척액의 준비

농축 세척액(20 배 농축액)을 정제수(탈이온수나 증류수)로 20 배 희석합니다. (예, 증류수 950 ml에 농축 세척액 50 ml을 첨가하여 세척액을 조제합니다.) 농축 세척액은 냉장 보관 시 결정이 생성, 이는 제품의 이상이 아니며, 37 °C에서 약 30 분 정치 후 결정이 용해되면 사용하도록 합니다.

(2) 조제한 시액의 보관조건 및 보존 기간

조제시액	보관조건	보존기간
세척액	2~30 °C	1 주일

3. 검사 과정

- 1) 검체 희석액 50 µl를 검사할 well 에 분주합니다.
- 2) 검체 희석액이 분주되어 있는 well 에 음, 양성 대조액 및 검체 50 µl를 분주합니다.
※ '1)'와 '2)'의 순서가 바뀌지 않도록 합니다.
- 3) 밀봉한 플레이트를 37 °C에서 60 분 동안 반응시킵니다.
- 4) 세척액을 시액의 조제 항에 따라 조제합니다.
- 5) '3)'의 반응이 끝나면 각 well 의 내용물을 흡입하고 세척액으로 5 회 세척합니다. Well 내의 내용물을 흡입장치로 제거한 후, 세척액을 well 에 완전히 채우고(well 당 약 350 µl씩) 다시 세척액을 흡입하는 방법으로 5 회 반복한 다음, 잔여 용액을 제거합니다.
- 6) '5)'의 플레이트 각 well 에 접합체액을 100 µl씩 넣고 37 °C에서 30 분간 반응시킵니다.
- 7) '6)'의 반응이 끝난 다음 각 well 의 내용물을 흡입하고 세척액으로 5 회 세척합니다. ('5)' 항을 반복합니다.)
- 8) '7)'의 플레이트에 기질액을 well 당 100 µl씩 넣고 빛을 차단한 후 15 분간 실온(18~25 °C)에서 반응시킵니다.
- 9) '8)'의 반응이 끝난 플레이트에 반응 정지액을 well 당 100 µl씩 넣고 잘 혼합하여 청색이 노란색으로 완전히 변하도록 합니다.

- 10) 공기를 맹검으로 하여(Air blank) 음성 대조액, 양성 대조액 그리고 각 검체의 흡광도를 측정합니다. 이때 흡광도의 측정 파장은 450 nm 로 하고, 이중 파장 흡광도 측정기(dual wavelength reader)를 사용할 경우 참조파장은 620 nm 로 하며 반응 정지액을 넣고 30 분 이내에 흡광도 값을 측정합니다.

4. 결과 판정

1) 판정 기준값 (Percent Inhibition : PI) 계산

(1) 양성대조액 평균값 계산

상기 검사방법에 따라 양성 대조액의 흡광도를 얻은 다음 그 두 값의 평균값을 산출합니다.

예)

양성 대조액 번호	흡광도(450 nm, 참조파장 620 nm)
1	0.021
2	0.035
합계	0.056

*양성 대조액(혈청)의 평균 흡광도 : $PCx = 0.056/2 = 0.028$

(2) 음성 대조액 평균값 계산

상기 검사방법에 따라 음성 대조액의 흡광도를 얻은 다음 그 두 값의 평균값을 산출합니다.

예)

음성 대조액 번호	흡광도(450 nm, 참조파장 620 nm)
1	2.034
2	1.992
합계	4.026

*음성 대조액의 평균 흡광도 : $NCx = 4.026/2 = 2.013$

(3) PI 값 계산

$PI\ value = [1 - (\text{샘플 흡광도} / \text{음성 대조액 평균 흡광도})] \times 100$

※PI value 가 '-'(minus)로 나올 경우 '0'으로 간주합니다.

예) 양성 대조액의 평균 흡광도 = 0.028, 음성 대조액의 평균 흡광도 : 2.013

$PI\ value = [1 - (0.028/2.013)] \times 100 = 98.61$ (양성 대조액 PI value 80 이상 : 정도관리)

검체의 흡광도 = 0.562, 음성 대조액의 평균흡광도 : 2.013

$PI\ value = [1 - (0.562/2.013)] \times 100 = 72.1$ (PI value 40 이상 : 양성)

2) 결과의 판정

(1) 음성 : 판정 기준값 미만의 PI 값을 나타내는 검체는 음성으로 판정합니다.

(2) 양성 : 판정 기준값 이상의 PI 값을 나타내는 검체는 양성으로 판정합니다.

(3) 1 차 검사에서 양성 판정 검체는 2 wells 이상 재검사하고 재검 결과에서 1 well 이상 양성으로 판정되면 최종양성으로 판정합니다.

(4) 최종 양성 판정된 검체는 다른 임상결과나 실험결과를 함께 이용하여 전문 의사가 종합적으로 최종 진단을 내려야 합니다.

(5) 판정 기준값(PI value)

판정 기준값(PI value) 및 본 제제의 민감도, 특이도는 다음과 같습니다.

양성 PI 값	40 이상
음성 PI 값	40 미만
근거 검체수	1,427
민감도	98.2 % (691/704)
특이도	99.5 % (720/723)

5. 정도관리

- 1) 양성 대조액은 2 well 을 이용하여 시험하며, 평균 흡광도 값은 0.2 이하이어야 하며, 2 개의 값의 평균값으로 산출합니다. 만약 2 개중 1 개의 값이 위의 범위를 벗어났을 경우 재시험을 하여야 합니다.
- 2) 양성 대조액의 PI value 는 80 이상이어야 합니다.
- 3) 음성 대조액은 2 well 을 이용하여 시험하며, 평균 흡광도 값은 1.0 이상 이어야 하며, 2 개의 값의 평균값으로 산출합니다. 만약 2 개중 1 개의 값이 위의 범위를 벗어났을 경우 재시험을 하여야 합니다.
- 4) 평균 흡광도값이 위의 범위를 벗어난 경우에는 검사과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 합니다.

[사용 시 주의사항]

1. 돼지의 체외진단용 시약으로만 사용합니다.
2. 본 제품은 국내 돼지 열병 비백신 접종지역(제주도)에서만 사용할 수 있습니다.
3. 용혈이 심하거나 미생물이 심하게 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 신선한 검체를 시료로 사용합니다.
4. 검체 내의 혈구 찌꺼기, 혈액 응고성분 등의 고형물은 세척할 때 완전히 제거되지 않으면 비특이 반응을 유발하므로 특히 주의해야 합니다.
5. 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
6. 감염 가능 물질 검체는 미지의 바이러스나 세균 감염원으로서의 위험성을 내포하고 있으므로 취급에 주의하며, 검체 취급 시에는 일회용 장갑을 사용하고 취급 후 손을 깨끗이 씻는다.
7. 기질액과 반응 정지액은 피부에 닿지 않도록 주의합니다.
8. 사용방법에 따라 시험하지 않을 경우 부정확한 결과가 나올 수 있으므로 이를 준수하며 시험하도록 한다.
9. 실험에 사용한 고형폐기물은 121 °C에서 15 분 이상 고압 증기 멸균을 권장하며, 국가 또는 지역의 정해진 규율에 따라 안전하게 폐기해야 한다.
10. 실험에 사용되었던 액체 폐기물은 차아염소산나트륨용액을 1 % 이상 되도록 첨가하여 12 시간 이상 담가 감염성을 완전히 제거한 후에 폐기합니다.
11. 실험 후 남은 구성품 및 시약은 사용 즉시 밀봉하여 냉장 보관하고, 오염되지 않도록 주의합니다.
12. 본 제품은 가축 방역기관 및 병성감정기관에 한해서만 사용 가능하며 일반 축산농가에서는 구매, 사용이 불가합니다.
13. 본 제제는 여러 가지 요인으로 위양성, 위음성 결과의 가능성을 완전히 배제할 수 없으므로 본 제품의 결과만으로 최종 진단할 수 없습니다.

14. 전문 수의사가 사용하며, 다른 검사결과와 임상소견에 근거하여 최종 진단하여야 합니다.
15. 오염을 방지하기 위하여, 검사에 사용할 만큼의 용액을 깨끗한 일회용 용기에 덜어서 사용하는 것을 권장합니다.
16. 사용에 필요한 만큼의 플레이트를 꺼내고, 남은 잔량은 다시 지퍼백에 넣어 즉시 밀봉하여 냉장(2~8 °C) 보관하고, 가급적 빠른 시간 내에 사용합니다.
17. 검체와 모든 시약은 실험 시작 약 30 분 전에 실온(18~25 °C)에 꺼내어, 실온 (18~25 °C)에 적응된 것을 확인한 후 사용합니다.

[포장 단위]

구성품/포장단위	96 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)	480 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)	960 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)
항원 흡착 플레이트	1 장	5 장	10 장
음성 대조액(혈청)	1 병 (0.5 mL/병)	1 병 (1.5 mL/병)	1 병 (2.5 mL/병)
양성 대조액(혈청)	1 병 (0.5 mL/병)	1 병 (1.5 mL/병)	1 병 (2.5 mL/병)
농축 세척액 (20 배)	1 병 (50 mL/병)	1 병(250 mL/병)	2 병(250 mL/병)
검체 희석액	1 병 (10 mL/병)	1 병 (50 mL/병)	1 병 (100 mL/병)
접합체액	1 병 (15 mL/병)	1 병 (80 mL/병)	1 병 (200 mL/병)
TMB 기질액	1 병 (12 mL/병)	1 병 (60 mL/병)	1 병 (120 mL/병)
반응 정지액	1 병 (15 mL/병)	1 병 (80 mL/병)	1 병 (200 mL/병)
플레이트 밀봉테이프	2 장	10 장	20 장
설명서	1 장	1 장	1 장

[저장 방법 및 사용기한]

1. 사용기한
 - 1) 사용기한: 제조일로부터 18 개월
 - 2) 개봉 후 사용기한: 개봉일로부터 3 개월 이내 사용
2. 저장방법
 - 1) 보관온도: 2~8 °C 냉장 보관
 - 2) 검사키트는 냉동 보관하지 않도록 주의합니다.
 - 3) 사용 중 키트의 오염으로 인해 제품 성능에 영향을 미칠 수 있으므로, 시험에 사용하려고 다른 용기에 담았던 용액은 폐기합니다.

문서번호: I4413-5K

발행일: 2024.03.25



(주)바이오노트 18449 경기도 화성시 삼성1로 4길 22
 TEL: 031-211-0516 | FAX : 031-8003-0618 | www.bionote.co.kr