



바이오노트 우결핵 항체 엘리자 2.0

동물용 의약품

[제품명]

인수공통전염병면역검사시약[3]

[형명]

BIONOTE BTB Ab ELISA 2.0

[개요]

본 제품은 소의 혈청 중의 우결핵 항체를 검출하는 엘리자 키트입니다. 순수하게 분리된 BTB 항원을 플레이트에 흡착하고 MPB70 에 효소를 접합시켜 시료 중의 소 결핵 항체에 대하여 반응하도록 하여, 소의 혈청 및 혈장에서 소 결핵에 대한 항체를 검출할 수 있도록 고안하였습니다.

[제품의 구성표]

번호	명칭	세부구성	외관상 특징
1	우결핵 항원 흡착 플레이트	1. 8wells * 12 스트립/장 2. 96wells	무색 평면 바닥 형태의 폴리스틸렌 플레이트
2	음성 대조액 (혈청)	단일	연한 파랑 내지 파랑색의 액상제제
3	양성 대조액 (혈청)	단일	연한 빨강 내지 빨강색의 액상제제
4	농축세척액(10 배 농축액)	단일	무색 내지 옅은 담황색의 액상 제제
5	접합체액	단일	초록 내지 진한초록색의 액상 제제
6	TMB 기질액	단일	갈색 불투명 플라스틱 병에 담겨진 무색 내지 미황색의 액상 제제
7	반응 정지액	단일	무색의 액상 제제

[원재료 또는 성분 및 분량]

번호	명칭	배합목적	원재료(명) 또는 성분(명)	분량
1	우결핵 항원 흡착 플레이트	주성분	우결핵 재조합 단백질 항원	2µg/ml
2	음성대조액	주성분	정상 소 혈청	0.5ml
		보존제	프로클린	0.05%
3	양성대조액	주성분	우결핵 양성 소 혈청	0.5ml
		보존제	프로클린	0.05%
4	농축 세척액 (10 배 농축액)	주성분	폴리소르베이트 20	2%
		희석액	농축 인산염 생리식염 완충액	적량
		보존제	프로클린	0.05%
5	접합체액	주성분 1	우결핵 재조합 단백질 항원-과산화효소 접합액	0.02%
		주성분 2	인산염생리식염 완충액	8ml
		보존제	프로클린	0.05%
6	TMB 기질액	주성분 1	테트라메틸벤지딘	적량
		주성분 2	과산화수소수	적량

7	반응 정지액	주성분	1N 황산	20 μ l/ml
---	--------	-----	-------	---------------

[사용 목적]

엘리자 방법에 의한 소 혈청 중의 우결핵 항체 검출

[사용 방법]

1. 검체 준비 및 저장방법

- 1) 소의 혈청을 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 검체는 비동화(56°C, 30 분)을 실시한 검체를 이용합니다.
- 3) 2 ~ 8°C에서 보관할 경우 15 일까지 본 시약을 이용한 검사에 사용 가능하며, 4 일 이상 보관 시에는 -20°C에 보관합니다.
- 4) 용혈이 심하거나 미생물에 오염된 검체의 경우는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의합니다.
- 5) 검체 중에 Sodium azide 가 첨가된 경우 결과에 영향을 미칠 수 있으므로 주의합니다.

2. 검사 전 준비사항

- 1) 시약을 약 30 분 전에 실온(18 ~25°C)에 꺼내어 둡니다. (실온에 충분히 적응되었는지 확인한 후 사용하도록 합니다.)
- 2) 시험 후 남은 항원흡착플레이트는 자체 은박포에 실리카겔 포와 함께 잘 밀봉하여 2~8°C에서 냉장 보관합니다.
- 3) 검체는 사용 전에 충분히 혼합하여 사용합니다.
- 4) ELISA 검사장비 및 검사환경에 따라 불특정 위양성 결과가 나타날 수 있으므로 검사 전 사용 장비의 점검 및 검사환경을 청결히 합니다.

5) 시액의 조제

(1)세척액의 준비

농축세척액(10 배 농축액)을 정제수(탈이온수나 증류수)로 10 배 희석합니다. (예, 증류수 900 ml에 농축세척액 100 ml을 첨가하여 세척액을 조제합니다.)

(2) 조제한 시액의 보관조건 및 보존 기간은 다음과 같습니다.

조제시액	보관조건	보존기간
세척액	실온, 2~30°C	1 주일

- 6) 키트의 구성물을 다른 제품과 혼용하여 사용하지 않습니다.

3. 검사 과정

1) 검체의 분주

- (1) 시험에 필요한 양 만큼의 스트립을 꺼내어 프레임에 고정시킵니다.
- (2) 플레이트의 각 well 에 음성대조액(혈청), 양성대조액(혈청), 검사하고자 하는 시료 원액 50 μ l씩을 분주합니다.
- (3) 접합체액을 음, 양성대조액과 검체가 들어있는 well 에 50 μ l씩 첨가(첨가 시 접합체액이 well 의 벽면에 묻지 않도록 합니다.)한 후 약 10 초 이상 시료들이 well 바깥으로 튀지 않게 조심스럽게 흔들어 준 후 플레이트를 첨부된 밀봉테이프로 밀봉합니다. 이때 시험결과의 신뢰성 향상을 위하여 음, 양성대조액은 2well 식 분주합니다.

※(2)과 (3)의 순서가 바뀌지 않도록 하며, 100 건 이상의 시료를 검사할 경우 희석용 플레이트에서 검체 55 μl 와 접합체액 55 μl 를 혼합한 후 100 μl 를 취하여 항원 코팅 플레이트에 분주하여 시험하는 것을 권장합니다.

- 2) 밀봉한 플레이트를 37°C에서 60 분 동안 반응시킵니다.
- 3) 세척액을 '시액의 조제'항에 따라 조제합니다.
- 4) 반응 후 각 well 의 내용물을 흡입하고 세척액으로 6 회 세척합니다. well 내의 내용물을 흡입장치로 제거한 후, 세척액을 well 에 완전히 채우고(well 당 약 350 μl 씩)다시 세척액을 흡입하는 방법으로 6 회 반복한 다음, 잔여 용액을 제거합니다. (잔여 용액 제거 후 바로 TMB 기질액을 첨가하도록 합니다. 5 분 이상 정치할 경우 흡광도 값이 낮아집니다.)
- 5) TMB 기질액을 모든 well 에 100 μl 씩 분주하고 빛을 차단 한 후 15 분간 실온에서 반응시킵니다.
- 6) 5)의 반응이 끝난 플레이트에 반응정지액을 well 당 100 μl 씩 넣고 잘 혼합하여 청색이 노란색으로 완전히 변하도록 합니다.
- 7) 공기를 맹검으로 하여 (Air blank) 음성대조액, 양성대조액 그리고 각 검체의 흡광도를 측정합니다. 이때 흡광도의 측정 파장은 450nm 로 하고, 이중 파장흡광도 측정기(dual wavelength reader)를 사용할 경우 참조파장은 620nm 로 하며 반응 정지액을 넣고 30 분 이내에 흡광도 값을 측정합니다.

4. 결과 판정

1) 판정 기준값(S/P) 계산

(1) 음성대조액 평균값 계산

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

(2) 양성대조액 평균값 계산

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

(3) S/P 값 계산

$S/P \text{ value} = (\text{샘플 흡광도} - \text{음성대조액 평균 흡광도}) / (\text{양성대조액 평균 흡광도} - \text{음성대조액 평균 흡광도})$

예) 샘플 흡광도 = 1.636, 음성대조액의 평균 흡광도 = 0.023, 양성대조액의 평균 흡광도 = 2.111 일 때

$S/P \text{ value} = (1.636 - 0.023) / (2.111 - 0.023) = 0.77$

결과 판정 : 양성

2) 결과의 판정

- (1) 음성 : 판정 기준값(0.3) 미만의 S/P 값을 나타내는 검체는 음성으로 판정합니다.
- (2) 의양성 : 판정 기준값 0.3 이상 0.5 미만의 S/P 값을 나타내는 의양성 검체는 결핵발생상황에 따라 2 차 PPD 확진검사에 포함하는 것을 추천합니다.
- (3) 양성 : 판정 기준값(0.3) 이상의 S/P 값을 나타내는 검체는 양성으로 판정합니다.
- (4) 1 차 검사에서 양성 판정 검체는 2 wells 이상 재검사하고 재검 결과에서 1well 이상 양성으로 판정되면 최종양성으로 판정합니다.
- (5) 최종 양성 판정된 검체는 다른 임상결과나 실험결과(PPD 검사 혹은 r-IFN 검사 등)를 함께 이용하여 전문 수의사가 종합적으로 최종진단을 내려야 합니다.
- (6) 판정 기준값(S/P 값)

S/P 값	0.3 미만	0.3 이상~0.5 미만	0.5 이상
판정	음성	의양성	양성

5. 정도관리

- 1) 음성대조액은 2 well 을 이용하여 시험하며, 평균 흡광도 값은 0.150 이하이어야 하며, 만약 1 개의 값이 범위를 벗어났을 경우 검사과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인 후 재검사하여야 합니다.
- 2) 양성대조액의 2 well 을 이용하여 시험하며, 평균 흡광도 값은 1.500 이상 이어야 한다. 만약 1 개의 값이 범위를 벗어난 경우에는 검사과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 합니다.

[사용 시 주의사항]

- 1) 소의 체외진단용 시약으로만 사용합니다.
- 2) 제품의 사용 후 남은 구성물은 즉시 냉암소에 다시 보관하며, 서로 다른 로트의 구성물과 혼합하여 사용하지 않도록 주의합니다.
- 3) 유효기간이 지난 제품은 사용하지 않으며, 제품 내 시약이 다른 시약이나 검체에 오염되지 않도록 주의합니다.
- 4) 검체는 우결핵 등의 감염 가능성이 있는 것이므로 취급에 주의합니다.
- 5) 용혈이 심하거나 미생물이 심하게 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 신선한 검체를 시료로 사용합니다.
- 6) 검체 내의 혈구 찌꺼기, 혈액 응고 성분 등의 고형물은 세척할 때 완전히 제거되지 않으면 well 의 한 부분으로부터 시작되는 비특이 반응을 유발하므로 특히 주의해야 합니다.
- 7) 만약의 경우 well 의 한 부분에서부터 발색 반응이 나오기 시작하면 음성으로 간주하지 않습니다.
- 8) 감염 가능 물질을 취급할 때는 1 회용 비닐 장갑 등을 착용하고 취급 후에는 손을 세정제로 깨끗이 닦습니다.
- 9) 기질액과 반응정지액은 피부에 닿지 않도록 주의합니다.
- 10) 실험에 사용한 고형폐기물은 121°C에서 15 분 이상 고압 증기 멸균하여 폐기합니다.
- 11) 실험에 사용되었던 액체 폐기물은 차아염소산나트륨용액을 1% 이상 되도록 첨가하여 12 시간 이상 담가 감염성을 완전히 제거한 후에 폐기합니다.
- 12) 본 제제는 우결핵 항체 검출에 관한 1 차적인 스크리닝 목적으로 고안된 진단시약으로, 보다 정밀한 원리로 고안된 검사법과 검출 감도 면에서 차이를 보일 수 있습니다.
- 13) 이 검사 키트는 농림축산검역본부 및 시 도 가축 방역기관에 한하여 사용할 수 있습니다.
- 14) 본 제제는 여러 가지 요인으로 위양성, 위음성 결과의 가능성을 완전히 배제할 수 없으므로 본 제품의 결과만으로 최종 진단할 수 없습니다.
- 15) 전문 의사가 사용하며, 다른 검사결과와 임상소견에 근거하여 최종 진단하여야 합니다.

[포장 단위]

원료약품/포장단위	96 tests/kit (8 웰 X 12 스트립/장)	480 tests/kit (8 웰 X 12 스트립/장)	960 tests/kit (8 웰 X 12 스트립/장)
항원흡착플레이트	1 장	5 장	10 장
음성대조액	1 병 (0.5 mL/병)	1 병 (2.5 mL/병)	1 병 (4.5 mL/병)
양성대조액	1 병 (0.5 mL/병)	1 병 (2.5 mL/병)	1 병 (4.5 mL/병)
농축 세척액 (10 배)	1 병 (50 mL/병)	1 병(250 mL/병)	2 병(250 mL/병)
접합체액	1 병 (8 mL/병)	1 병 (40 mL/병)	1 병 (80 mL/병)
TMB 기질액	1 병 (12 mL/병)	1 병 (60 mL/병)	1 병 (120 mL/병)

반응정지액	1 병 (15 mL/병)	1 병 (80 mL/병)	1 병 (150 mL/병)
플레이트 밀봉테이프	2 장	10 장	20 장

[저장 방법 및 사용기한]

구성시약	개봉여부	보관조건	유효기간	비고
항원흡착플레이트	미개봉	온도2~8°C, 밀봉, 실리카겔	12 개월	완제품
	개봉	온도2~8°C, 재밀봉, 실리카겔	7 일	가급적 빠른 시일 내 사용
각종 용액	미개봉	온도2~8°C, 밀폐	12 개월	완제품
	개봉	온도2~8°C, 재밀폐	12 개월	

※검사키트는 냉동보관하지 않도록 주의

문서번호: I 4304-8K

발행일: 2017.09.14



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