



## 바이오토티 CSFV 항체 B 엘리자

동물용 의료기기

**[제품명]**

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	유전자 재조합 돼지열병 항원 흡착 플레이트	1. 8wells * 12 스트립/장 2. 96wells	무색 평면 바닥 형태의 폴리스틸렌 플레이트
2	음성 대조액	단일	연한 파랑 내지 파랑색의 액상제제
3	양성 대조액	단일	연한 빨강 내지 빨강색의 액상제제
4	검체희석액	단일	연한 보라 내지 보라색의 액상제제
5	농축세척액(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

**[원재료 또는 성분 및 분량]**

번호	명칭	배합목적	원재료(명) 또는 성분(명)	분량
1	CSFV 항원 흡착 플레이트	주성분	유전자 재조합 CSFV 항원	2.0µg/ml
2	음성대조액	주성분	SPF 돼지 혈청	0.5ml
		보존제	프로클린	0.05%
3	양성대조액	주성분	돼지 CSFV 양성 혈청	0.5ml
		보존제	프로클린	0.05%
4	검체희석액	주성분	인산염 생리식염 완충액	10ml
		보존제	프로클린	0.01%

5	농축 세척액 (20 배 농축액)	주성분	폴리소르베이트 20	2%
		희석액	농축 인산염 생리식염 완충액	50ml
		보존제	프로클린	0.05%
6	접합체액	주성분	마우스 단클론 CSFV 항체-과산화효소 접합액	0.4µg/ml
		안정제	소혈청알부민	적량
		보존제	프로클린	0.05%
7	TMB 기질액	주성분 1	테트라메틸벤지딘	적량
		주성분 2	과산화수소수	적량
8	반응 정지액	주성분	1N 황산	20µl/ml

**[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 15 일까지 본 시약을 이용한 검사에 사용 가능하며, 3 일 이상 보관 시에는 -20°C에 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) 시약을 약 30 분 전에 실온(18 ~25°C)에 꺼내어 둡니다. 시험 종료까지 제품에 포함된 각종 용액은 실온에 두도록 합니다.
- 2) 시험 후 남은 항원흡착플레이트는 자체 은박포에 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

농축세척액(20 배 농축액)을 정제수(탈이온수나 증류수)로 20 배 희석합니다. (예, 증류수 950 ml에 농축 세척액 50 ml을 첨가하여 세척액을 조제합니다.) 농축세척액은 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	실온, 2~30°C	1 주일

3. 검사 과정

- 1) 검체의 희석액 50  $\mu\text{l}$ 를 검사할 well 에 분주합니다.
- 2) 검체 희석액이 분주되어 있는 well 에 음, 양성 대조액 및 검체 50  $\mu\text{l}$ 를 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  $\mu\text{l}$ 씩) 다시 세척액을 흡입하는 방법으로 5 회 반복한 다음, 잔여 용액을 제거합니다.
- 6) 5)의 플레이트 각 well 에 접합체액을 100  $\mu\text{l}$ 씩 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  $\mu\text{l}$ 씩 넣고 빛을 차단한 후 15 분간 실온(18~25°C)에서 반응시킵니다.
- 9) 8)의 반응이 끝난 플레이트에 반응정지액을 well 당 100  $\mu\text{l}$ 씩 넣고 잘 혼합하여 청색이 노란색으로 완전히 변하도록 합니다.
- 10) 공기를 맹검으로 하여(Air blank) 음성대조액, 양성대조액 그리고 각 검체의 흡광도를 측정합니다. 이 때 흡광도의 측정 파장은 450nm 로 하고, 이중 파장 흡광도 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 (Percent Inhibition : PI) 계산

(1) 양성대조액 평균값 계산

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

예)

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

\*양성대조액의 평균 흡광도 :  $PCx = 0.056/2 = 0.028$

(2) 음성대조액 평균값 계산

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

예)

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

\*음성대조액의 평균 흡광도 :  $NCx = 4.026/2 = 2.013$

(3) PI 값 계산

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

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

예) 양성대조액의 평균흡광도 = 0.028, 음성대조액의 평균흡광도 : 2.013

PI value =  $[1-(0.028/2.013)]*100 = 98.61$  (양성대조액 PI value 80 이상 : 정도관리)

검체의 흡광도 = 0.562, 음성대조액의 평균흡광도 : 2.013

PI value =  $[1-(0.562/2.013)]*100 = 72.1$  (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 1well 이상 양성으로 판정되면 최종양성으로 판정합니다.
- (4) 최종 양성 판정된 검체는 다른 임상결과나 실험결과를 함께 이용하여 전문 수의사가 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 검체
민감도	98.2% (691/704)
특이도	99.5% (720/723)

## 5. 정도관리

- 1) 양성대조액은 2well 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 재 시험을 하여야 합니다.
- 2) 양성대조액의 PI value 는 80 이상이어야 합니다.
- 3) 음성대조액은 2well 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 재 시험을 하여야 합니다.
- 4) 평균 흡광도값이 위의 범위를 벗어난 경우에는 검사과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사 하여야 합니다.

### [사용 시 주의사항]

1. 돼지의 체외진단용 시약으로만 사용합니다.
2. 본 제품은 국내 돼지 열병 비백신 접종지역(제주도)에서만 사용 할 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 가능물질을 취급할 때는 1 회용 비닐장갑 등을 착용하고 취급 후에는 손을 세정제로 깨끗이 닦습니다.
7. 기질액과 반응정지액은 피부에 닿지 않도록 주의합니다.
8. 실험에 사용한 고형폐기물은 121°C에서 15 분 이상 고압 증기 멸균하여 폐기합니다.
9. 실험에 사용되었던 액체 폐기물은 차아염소산나트륨용액을 1% 이상 되도록 첨가하여 12 시간 이상 담가 감염성을 완전히 제거한 후에 폐기합니다.
10. 실험 후 남은 구성품 및 시약은 사용 즉시 밀봉하여 냉장 보관하고, 오염되지 않도록 주의합니다.

11. 본 제품은 가축 방역기관 및 병성감정기관에 한해서만 사용 가능하며 일반 축산농가에서는 구매, 사용이 불가합니다.
12. 본 제제는 여러 가지 요인으로 위양성, 위음성 결과의 가능성을 완전히 배제할 수 없으므로 본 제품의 결과만으로 최종 진단할 수 없습니다.
13. 전문 수의사가 사용하며, 다른 검사결과와 임상소견에 근거하여 최종 진단하여야 합니다.

**[포장 단위]**

원료약품/포장단위	96 tests/kit	480 tests/kit	960 tests/kit
	(8wells X 12 스트립/장)	(8wells X 12 스트립/장)	(8wells X 12 스트립/장)
항원흡착플레이트	1 장	5 장	10 장
음성대조액(혈청)	1 병 (0.5 mL/병)	1 병 (1.5 mL/병)	1 병 (2.5 mL/병)
양성대조액(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)
검체희석액	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)
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 (200 mL/병)
플레이트 밀봉테이프	2 장	10 장	20 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: I4413-3K

발행일: 2017.09.14



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