



바이오노트 CSFV 항체 I 엘리자

동물용 의료기기

[제품명]

고위험성동물전염병면역검사시약[3]

[형명]

BIONOTE CSFV Ab I-ELISA

[검사 원리]

본 제품은 돼지의 혈청 및 혈장에서 돼지열병바이러스에 대한 항체를 검출하는 엘리자 키트입니다. 유전자 재조합 돼지열병바이러스 E2 항원을 정제하여 마이크로 플레이트에 코팅하고 이후 검체를 첨가하여 반응시키면 검체 중에 존재하는 항체가 플레이트에 코팅된 항원과 결합, 이후 토끼 항 돼지 IgG 에 대한 항체와 HRP 가 접합된 conjugate 를 첨가하여 반응시킵니다.

돼지 혈청 및 혈장에 돼지열병바이러스에 대한 항체가 존재하면, 플레이트의 코팅 항원, 검체의 항체 및 HRP 가 접합된 conjugate 항체가 결합하여 발색하여 Indirect ELISA 방식의 검사가 가능합니다.

[제품의 구성표]

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

[원재료 또는 성분 및 분량]

번호	명칭	배합목적	원재료(명) 또는 성분(명)	분량
1	유전자 재조합 항원 흡착 플레이트	주성분	유전자 재조합 CSFV 항원	0.8 μ g/well
2	희석용 플레이트	보조기구		
3	음성 대조액	주성분	SPF 돼지 혈청	0.5m ℓ
		보존제	프로클린	0.05%
4	양성 대조액	주성분	돼지 CSFV 백신 양성 혈청	0.5m ℓ
		보존제	프로클린	0.05%
5	검체희석액	주성분	인산염 생리식염 완충액	10m ℓ
		보존제	프로클린	0.01%
6	농축 세척액 (20 배 농축액)	주성분	폴리소르베이트 20	2%
		희석액	농축 인산염 생리식염 완충액	50m ℓ
		보존제	프로클린	0.05%
7	접합체액	주성분	토끼 항 돼지 IgG항체 -과산화효소 접합액	1.5 μ g/m ℓ
		안정제	소혈청알부민	적량
		보존제	프로클린	0.05%
8	TMB 기질액	주성분 1	테트라메칠벤지딘	적량
		주성분 2	과산화수소수	적량
9	반응 정지액	주성분	1N 황산	20 μ ℓ /m ℓ

[사용 목적]

유전자 재조합 항원을 이용한 간접 엘리자 (Indirect ELISA) 방식의 돼지열병 항체 진단키트로, 돼지의 혈청 및 혈장에서의 돼지열병 바이러스에 대한 항체 검출을 목적으로 합니다.

[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 $^{\circ}$ C에서 보관할 경우 14 일(2 주)까지 본 시약을 이용한 검사에 사용 가능하며, 14 일 이상 보관이 필요할 경우 -20 $^{\circ}$ C에 1년까지 보관합니다.
- 3) 용혈이 심하거나 미생물에 오염된 검체의 경우는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의합니다.

2. 검사 전 준비사항 및 주의사항

- 1) 시약을 약 30 분 전에 실온(18~25°C)에 꺼내어 둡니다. 시험 종료까지 제품에 포함된 각종 용액은 실온에 두도록 합니다.
- 2) 모든 구성품은 사용 후 2~8°C에서 보관합니다.
- 3) 시험 후 남은 항원흡착플레이트는 자체 은박포에 실리카겔 포와 함께 잘 밀봉하여 2~8°C에서 냉장 보관합니다.
- 4) 검사 시 각종 용액을 덜어 쓰는 용기는 꼭 일회용을 사용하도록 합니다.
- 5) 검체는 사용 전에 충분히 혼합하여 사용합니다.
- 6) 키트의 구성물을 다른 제품과 혼용하여 사용하지 않습니다.
- 7) 시액의 조제

(1) 세척액의 준비

농축세척액(20 배 농축액)을 정제수(탈이온수나 증류수)로 20 배 희석합니다. (예, 증류수 950 ml에 농축 세척액 50 ml를 첨가하여 세척액을 조제합니다.)

(2) 조제한 시액의 보관조건 및 보존기간은 다음과 같습니다.

조제시액	보관조건	보존기간
세척액	실온, 2~30°C	1 주일

3. 검사과정

- 1) 검체를 검체희석액으로 40 배 희석합니다.
 - ① 검체희석용 플레이트를 사용할 경우, 검체희석액 195 μl 를 희석 플레이트에 분주한 후 각 well 에 음, 양성 대조액 및 검체를 5 μl 씩 분주합니다.
 - ② 희석용 튜브를 사용할 경우, 검체희석액 390 μl 를 튜브에 분주한 후 음, 양성 대조액 및 검체를 10 μl 씩 분주합니다.
- 2) 항원 흡착 플레이트 각 well 에 2)에서 희석된 음, 양성 대조액 및 검체를 100 μl 씩 분주한 후 키트 내 포함된 밀봉 테이프로 밀봉합니다.
- 3) 밀봉한 플레이트를 37°C에서 60 분 동안 반응시킵니다.
- 4) 세척액을 '시액의 조제'항에 따라 조제합니다.
- 5) 4)의 반응이 끝나면 반응 후 각 well 의 내용물을 흡입하고 세척액으로 5 회 세척합니다. Well 내의 내용물을 흡입장치로 제거한 후, 세척액을 well 에 완전히 채우고(well 당 약 350 μl 씩) 다시 세척액을 흡입하는 방법으로 5 회 반복한 다음, 잔여 용액을 제거합니다.
- 6) 6)의 플레이트 각 well 에 접합체액을 100 μl 씩 넣고 37°C에서 30 분간 반응시킵니다.
- 7) 7)의 반응이 끝난 다음 각 well 의 내용물을 흡입해 내고 세척액으로 5 회 세척합니다. (6)항을 반복합니다.)
- 8) 8)의 플레이트에 기질액을 well 당 100 μl 씩 넣고 빛을 차단한 후 15 분간 실온(18~25°C)에서 반응시킵니다.
- 9) 9)의 반응이 끝난 플레이트에 반응정지액을 well 당 100 μl 씩 넣고 잘 혼합하여 청색이 노란색으로 완전히 변하도록 합니다.

10) 공기를 맹검으로 하여(Air blank) 음성 대조액, 양성 대조액 그리고 각 검체의 흡광도를 측정합니다. 이 때 흡광도의 측정 파장은 450nm 으로 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) 결과의 판정은 Sample to positive(S/P) value 로 합니다.

(샘플흡광도 - 음성 대조액 평균 흡광도)

S/P value = -----

(양성 대조액 평균 흡광도 - 음성 대조액 평균 흡광도)

2) 판정 기준값 (S/P value) 및 본 제제의 민감도, 특이도는 다음과 같습니다.

양성 S/P 값	0.14 이상
음성 S/P 값	0.14 미만
근거 검체 수	1,135
민감도	100%(607/607)
특이도	99.8%(527/528)

3) 음성 : 판정 기준값 미만의 S/P 값을 나타내는 검체는 음성으로 판정합니다.

4) 양성 : 판정 기준값 이상의 S/P 값을 나타내는 검체는 양성으로 판정합니다.

5) 양성 판정된 검체는 다른 임상 결과나 실험 결과를 함께 이용하여 전문 의사가 종합적으로 최종 진단을 내려야 합니다.

5. 정도관리

1) 양성 대조액은 2well 을 이용하여 시험하며, 평균 흡광도 값은 0.8 이상이어야 하며, 2 개 값의 평균값으로 산출합니다. 만약 2 개중 1 개의 값이 위 범위를 벗어났을 경우 재 시험을 하여야 합니다.

2) 음성 대조액은 2well 을 이용하여 시험하며, 평균 흡광도 값은 0.2 미만이어야 하며, 2 개의 값의 평균값으로 산출합니다. 만약 2 개중 1 개의 값이 위의 범위를 벗어났을 경우 재시험을 하여야 합니다.

3) 평균 흡광도 값이 위 범위를 벗어난 경우에는 검사 과정이나 시약에 문제가 있는 것이므로 그 원인을 확인한 후 재검사하여야 합니다.

[사용 시 주의사항]

1. 돼지의 체외 진단용으로만 사용합니다.
2. 용혈이 심하거나 미생물이 심하게 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 신선한 검체를 시료로 사용합니다.
3. 검체 내의 혈구 찌꺼기, 혈액 응고성분 등의 고형물은 세척할 때 완전히 제거되지 않으면 well 의 한 부분으로부터 시작되는 비특이 반응을 유발하므로 특히 주의해야 합니다.
4. 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
5. 감염 가능물질을 취급할 때는 1 회용 비닐장갑 등을 착용하고 취급 후에는 손을 세정제로 깨끗이 닦습니다.
6. 기질액과 반응정지액은 피부에 닿지 않도록 주의합니다.
7. 실험에 사용한 고형폐기물은 121°C에서 15 분 이상 고압 증기 멸균하여 폐기합니다.
8. 실험에 사용되었던 액체 폐기물은 차아염소산나트륨용액을 1% 이상 되도록 첨가하여 12 시간 이상 담가 감염성을 완전히 제거한 후에 폐기합니다.
9. 본 제제는 여러 가지 요인으로 위양성, 위음성 결과의 가능성을 완전히 배제할 수 없으므로 본 제품의 결과만을 기초로 최종 진단할 수 없습니다.
10. 반드시 전문 수의사가 사용해야 하며, 본 제품의 결과 및 다른 검사결과와 임상소견에 근거하여 최종 진단을 내려야 합니다.

[포장 단위]

원료약품/포장단위	96 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)	192 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)	480 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)	960 tests/kit (8wells X 12 스트립/장)
항원흡착 플레이트	1 장	2 장	5 장	10 장
희석용 플레이트	1 장	2 장	5 장	10 장
음성 대조액	1 병 (0.2 ml/병)	1 병 (0.5 ml/병)	1 병 (1.0 ml/병)	1 병 (2.0 ml/병)
양성 대조액	1 병 (0.2 ml/병)	1 병 (0.5 ml/병)	1 병 (1.0 ml/병)	1 병 (2.0 ml/병)
농축 세척액(20 배)	1 병 (50 ml/병)	1 병 (100 ml/병)	1 병 (250 ml/병)	2 병 (250 ml/병)
검체 희석액	1 병 (50 ml/병)	1 병 (100 ml/병)	1 병 (250 ml/병)	2 병 (250 ml/병)
접합체액	1 병 (15 ml/병)	1 병 (30 ml/병)	1 병 (80 ml/병)	1 병 (200 ml/병)
기질액	1 병 (12 ml/병)	1 병 (25 ml/병)	1 병 (60 ml/병)	1 병 (120 ml/병)
반응 정지액	1 병 (15 ml/병)	1 병 (30 ml/병)	1 병 (80 ml/병)	1 병 (200 ml/병)
플레이트 밀봉테이프	2 장	4 장	10 장	20 장

[저장 방법 및 사용기한]

1. 사용기한

- 1) 사용기한: 제조일로부터 12개월
- 2) 개봉 후 사용기한: 개봉일로부터 3개월 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.

발행일: 2021년 04월 07일

문서번호: I4414-5K



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