

VDPro® 브루셀라 항체 ELISA

(VDPro® Brucella AB ELISA)

CAT.NO. EB-BRU-01



1. 제품의 개요 및 원리

VDPro® Brucella AB ELISA 제품은 Brucella abortus 균체를 기반으로 Indirect ELISA를 이용한 체외 진단용 제품으로 Brucella 감염에 의해 생성되는 소 항체 검사에 적용 할 수 있습니다. Brucella 균체가 고정화된 플레이트에 가검 혈청을 첨가한 후 효소가 결합된 HRPO Anti-bovine IgG conjugate를 반응시키고 연속하여 발색제를 첨가합니다. 혈청 내에 특이 항체가 존재하면 항체의 양에 비례적으로 conjugate가 반응하여 발색제 첨가 후 발색반응이 나타나게 됩니다. 반응 결과는 양성대조에 대한 가검 혈청의 흡광도 비(S/P, Sample to Positive control ratio)를 사용하여 판정합니다.

2. 제품의 구성

Reagents	480tests
1) Brucella 항원 흡착 플레이트 (Brucella Coated Plate)	5 plates
2) 10X 세척액 (10X Washing Buffer)	240mL X 1
3) 희석액 (Dilution Buffer)	240mL X 1
4) 양성대조(Positive Control, PC)	7.0mL X 1
5) 음성대조 (Negative Control, NC)	7.0mL X 1
6) HRPO Anti-Bovine IgG Conjugate	70mL X 1
7) 발색제 (TMB Substrate)	70mL X 1
8) 정지액 (Stop Solution)	40mL X 1
9) 사용설명서	1부

3. 검사 필요장비 및 소모품

- 1) 8 또는 12 채널 마이크로 피펫 및 팁(tip)
- 2) 피펫 및 피펫 에이드
- 3) 증류수 (시판 주사용 증류수 사용가능)
- 4) 항온기(25±3°C)
- 5) 판독기: ELISA reader (450nm)
- 6) ELISA plate용 자동 또는 반자동 세척기

4. 시약의 준비

- 1) 1X 세척액(1X Washing Buffer)
20mL의 10X Washing Buffer을 180mL의 증류수와 잘 혼합하여 사용합니다.
◆ 96-well ELISA plate 1장에 약200 mL 의 Washing Buffer가 소요됨
- 2) 발색제(TMB Substrate)
낮은 온도 상태의 TMB Substrate 는 발색 반응이 잘 일어나지 않을 수 있으므로 사용 전 실온에서 30분 이상 적응시킨 후 사용합니다.
◆ 96-well ELISA plate 1장에 약10 mL 소요됨

5. 시료의 준비

- 1) 혈액을 채혈하여 4°C에서 혈청이 분리될 때까지 놓아둔 후 원심하여 혈청을 분리합니다.
- 2) 시료는 비동화 또는 비동화 하지 않은 혈청을 사용합니다
- 3) 분리된 혈청은 사용 시까지 -20°C 이하 냉동고에 보관하며 사용합니다.

6. 시료의 희석

- 1) 채취된 혈청 또는 혈장을 희석액에 1/50으로 희석하여 검사에 사용합니다.
- 2) 1 mL용량의 Deep Well Plate (DWP)를 준비합니다.
- 3) DWP에 희석액 (Dilution Buffer) 490µL를 각 well에 분주합니다.
- 4) 혈청 10 µL 를 각 well에 넣은 후 잘 혼합합니다.
(희석배수 1/50)



양성대조(Positive Control, PC)와 음성대조(Negative Control, NC)는 희석하지 않습니다.

7. 사용시 유의사항

- 1) 유효기간이 지난 시약은 사용하지 않습니다.
- 2) 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
- 3) 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
- 4) 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, 세척기, 판독기 등의 기능이 정확한지 확인합니다.
- 5) 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의 하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
- 6) ELISA 플레이트는 가급적 1 플레이트 단위 (92두분)로 사용하며, 포장 내의 제습제의 색이 변형되어 분홍색을 띄거나 지퍼백의 지퍼가 열려있는 경우 검사에 사용하지 않습니다.
- 7) Strip Plate (8-well X 12) 제품의 남은 strip은 지퍼백에 다시 넣어 보관하면서 사용합니다.
- 8) 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단제품 재료들은 폐기물 처리하여 폐기하도록 합니다.
- 9) 세척과정을 실행 할 때는 모든 well이 세척액으로 완전히 채워지고 완전히 제거되는지 확인 하고, 플레이트의 세척액을 버릴 때 strip이 빠지지 않도록 주의합니다.
- 10) 개봉한 플레이트는 1주일 이내에 제습제가 포함된 지퍼백에 넣어 공기를 차단하고 개봉 후 1주일 이내에 사용합니다.
- 11) 검사에 사용되는 모든 시약은 사용 전에 25±3°C 으로 맞추어 사용합니다.
- 12) 각 반응 용액마다 다른 리저버(reservoir)를 사용하고, 리저버는 재활용하여 사용하지 않습니다.

8. 검사 순서

- 1) Brucella 항원 흡착 플레이트를 실온에 두고 10~20분 가량 방치합니다.
 - 2) 플레이트의 각 well에 희석된 가검혈청을 100 μ l씩 분주합니다.
 - 3) 플레이트에 희석하지 않은 양성대조와 음성대조를 각각 100 μ l씩 넣습니다.
 - 4) 실온 (25 \pm 3 $^{\circ}$ C)에서 30분간 반응시킵니다.
 - 5) 반응액을 털어버리고 1X 세척액(1X Washing Buffer) 300 μ l씩을 모든 well에 분주한 후 바로 털어버리는 과정을 3회 반복합니다.
 - 6) 마지막 세척액을 제거하고 well 내에 물기가 남지 않도록 플레이트를 거꾸로 들고 paper towel 위에 여러 번 쳐서 세척액을 제거합니다. 이때 세척액을 털어 버린 후 well이 마르지 않도록 특히 주의해야 합니다.
 - 7) HRPO Anti-Bovine IgG Conjugate를 100 μ l씩 분주하고 실온 (25 \pm 3 $^{\circ}$ C) 에서 30분간 반응시킵니다.
 - 8) 위의 5)~6)번과 동일한 방법으로 세척합니다.
 - 9) 발색제 (TMB Substrate)를 각 well에 100 μ l씩 분주하고 실온에서 10분간 반응시킵니다.
 - 10) 10분 후 정지액 (Stop Solution)을 50 μ l 씩 첨가하여 반응을 중지시킵니다.
 - 11) 판독기 (ELISA Reader) 의 450nm 에서 흡광도 (A₄₅₀) 를 측정합니다.
- ◆ 육안으로 보아 양성대조의 발색반응이 10분 후에도 잘 안 될 경우 발색 반응시간을 20분까지 연장할 수 있습니다.
 - ◆ 정확한 측정을 위해서는 플레이트 well 내 거품 등 방해물을 제거한 후 판독 하는 것을 권장합니다.

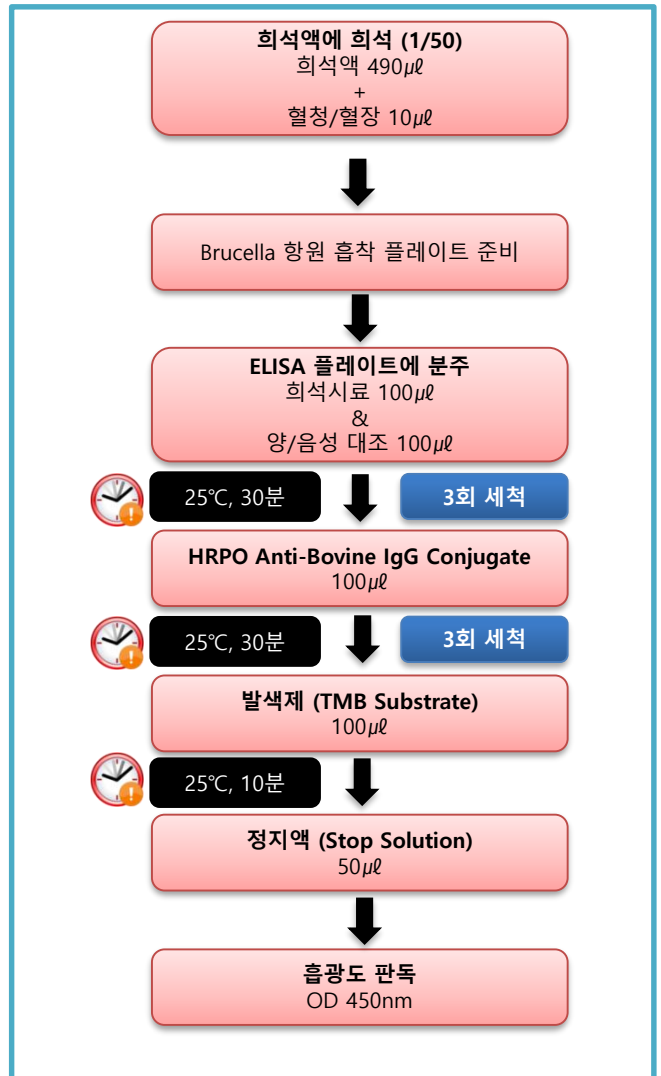
9. 결과 판독

- 1) 유효성 평가 (Validation)
 - ◆ 양성대조 (Positive Control, PC)
평균 OD 값은 0.5 이상
 - ◆ 음성대조 (Negative Control, NC)
평균 OD 값은 0.2 이하
- 2) 결과판정 (Interpretation)
가검시료의 Sample to Positive(S/P) ratio 을 산출하여 판정합니다.

$$S/P = \frac{(\text{가검시료 평균 OD} - \text{음성대조 평균 OD})}{(\text{양성대조 평균흡광도} - \text{음성대조 평균흡광도})}$$

S/P Value	0.25 이상	0.25 미만
결과판정	양성	음성

QUICK PROTOCOL



기술지원 및 문의

유효기간 내 제품은 고객센터기준에 의하여 제품교환
이나 기술지원을 요청하실 수 있습니다.

문의처: (주) 메디안 디노스틱 품질보증본부
24399 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878
전화 033 244 0100, 팩스 033 244 4634
median@mediandx.com