

# VDPro® 구제역바이러스 O형 항체 ELISA

(VDPro® FMDV Type O ELISA)

CAT.NO. EM-FMD-02



## 1. 제품의 개요 및 원리

VDPro® 구제역바이러스 O형 항체 ELISA 제품은 FMDV O형 유전자재조합 P13C (rP13C-O) 항원과 VP1 단백질의 중화항원결정기에 반응하는 단클론 항체를 기반으로 한 차단 효소면역법(Blocking ELISA)을 이용한 체외진단용 제품입니다. 이 제품은 구제역바이러스 O형에 대한 백신접종이나 감염에 의한 중화항체를 검사할 수 있으며, 소, 돼지, 양, 염소 등의 가검시료에 적용할 수 있습니다.

FMDV rP13C-O 항원이 포획용 단클론 항체에 의해서 고정화된 플레이트에 가검혈청을 반응시켜 혈청 내에 특이 항체가 존재하면 HRPO Anti-FMDV Conjugate (Type O)에 대한 반응이 차단되어 항체의 양에 따라 발색이 감소하며, 항체가 존재하지 않으면 항원에 대한 차단이 일어나지 않아 높은 발색이 나타납니다. 가검혈청의 항원에 대한 차단 정도를 음성대조에 대한 비율로 계산하여 시료 내 항체의 존재여부를 확인할 수 있습니다.

## 2. 제품의 구성

Reagents	192 tests	480 tests
① FMDV O형 항원 흡착 플레이트	2개	5개
② 10X 세척액 (10X Washing Buffer)	120mLX1	240mLX1
③ 희석액 (Dilution Buffer)	60mLX1	60mLX1
④ HRPO Anti-FMDV Conjugate (Type O)	40mLX1	70mLX1
⑤ 양성대조 (Positive Control, PC)	1.0mLX1	2.0mLX1
⑥ 음성대조 (Negative Control, NC)	1.0mLX1	2.0mLX1
⑦ 발색제 (TMB Substrate)	30mLX1	70mLX1
⑧ 정지액 (Stop Solution)	20mLX1	40mLX1
⑧ 사용설명서	1부	1부

## 3. 검사 필요장비 및 소모품

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

## 4. 시약의 준비

- 1) 1X 세척액 (1X Washing Buffer)

20 mL의 10X Washing Buffer을 180 mL의 증류수와 잘 혼합하여 사용합니다.

- ◆ 96-well ELISA plate 1장에 약 200mL의 Washing Buffer가 소요됨

- 2) Substrate 준비

발색제 (TMB Substrate)는 사용 전에 꺼내 실내 온도와 비슷하게 유지 시킨 후 사용합니다.

- ◆ Plate 1장당 약 10 mL 이 소요됨

## 5. 시료의 준비

- 1) 혈액을 채혈하여 2~8°C 에서 혈청이 분리될 때까지 놓아둔 후 원심하여 혈청을 분리합니다. 분리된 혈청은 사용 시까지 -20°C 이하의 냉동고에 보관하며 비동화하지 않습니다.
- 2) 혈청 또는 혈장을 검사에 사용합니다. 시료는 특별한 전처리가 필요 없습니다. 시료는 가급적 신선하게 채취하여 2~8°C의 냉장고에 보관하면서 검사합니다.
- 3) 혈청이나 혈장이 오염되거나 과도한 지방성분으로 점도가 높고 이물질이 존재하는 경우나 심하게 용혈된 시료는 가급적 사용하지 않습니다. 비특이 반응의 원인이 될 수 있습니다.

## 6. 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 주의하며 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.

## 7. 검사 순서

- 1) FMDV O형 rP13C 항원 흡착 플레이트를 실온에 두고 10~20분 가량 방치합니다.
  - 2) 플레이트의 각 well에 희석액을 80 $\mu$ l씩 분주하고 준비된 가검혈청, 양성/음성대조를 각각 20 $\mu$ l씩 분주합니다.
  - 3) 실온 (25 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C)에서 1시간 반응시킵니다.
  - 4) 반응액을 털어 버리고 1X 세척액(1X Washing Buffer) 300 $\mu$ l씩을 모든 well에 분주한 후 바로 털어버리는 과정을 3회 반복합니다.
  - 5) 마지막 세척액을 제거하고 well 내에 물기가 남지 않도록 플레이트를 거꾸로 들고 paper towel 위에 여러 번 쳐서 물기를 제거합니다. 이때 물기를 털어 버린 후 well이 마르지 않도록 특히 주의해야 합니다.
  - 6) HRPO Anti-FMDV Conjugate (Type O)를 각 well에 100 $\mu$ l씩 분주하고 실온 (25 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C)에서 1시간 반응시킵니다.
  - 7) 위의 4)~5)번과 동일한 방법으로 세척합니다.
  - 8) 발색제 (TMB Substrate)를 각 well에 100 $\mu$ l씩 분주하고 실온에서 15분간 반응시킵니다.
  - 9) 15분 후 정지액 (Stop Solution)을 50 $\mu$ l 씩 첨가하여 반응을 중지시킵니다.
  - 10) 판독기 (ELISA Reader)의 450nm 에서 흡광도 (A<sub>450</sub>)를 측정합니다.
- ◆ 육안으로 보아 양성대조의 발색반응이 15분 후에도 잘 안 될 경우 발색 반응시간을 30분까지 연장할 수 있습니다.
  - ◆ 정확한 측정을 위해서는 플레이트 well 내 거품 등 방해물을 제거한 후 판독 하는 것을 권장합니다.

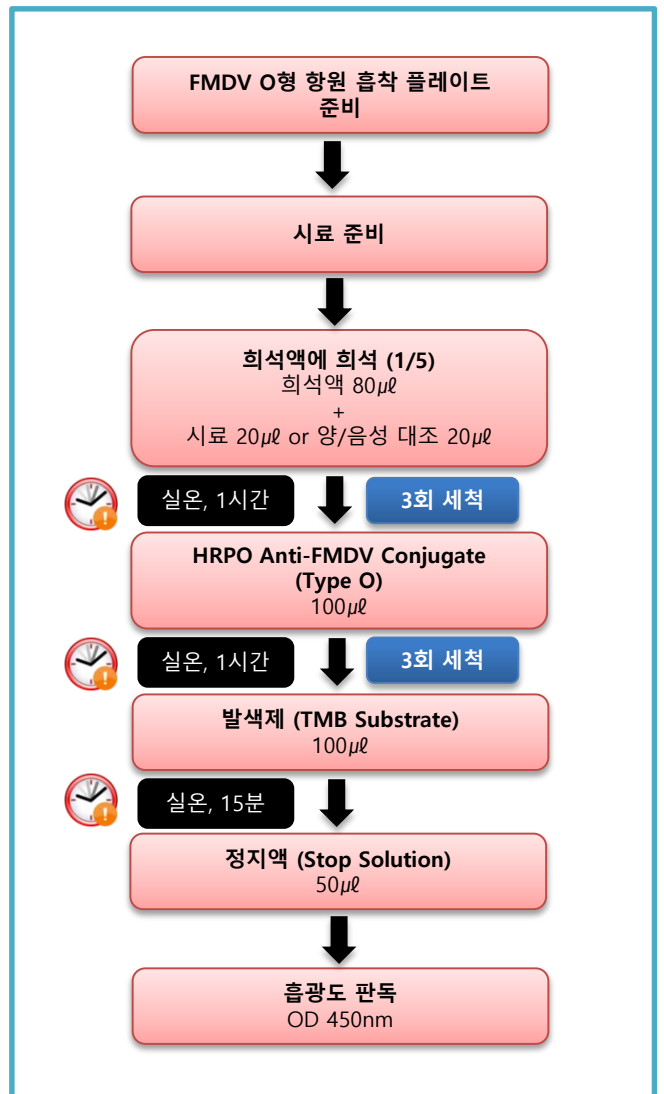
## 8. 결과 판독

- 1) 유효성 평가 (Validation)
  - ◆ 양성대조 (Positive Control, PC)  
평균 OD 값은 0.25 미만
  - ◆ 음성대조 (Negative control, NC)  
평균 OD 값은 0.7 이상
- 2) 결과판정(Interpretation)  
가검시료의 S/N ratio을 산출하여 판정합니다.

$$S/N = \frac{\text{가검시료 평균 OD}}{\text{음성대조 평균 OD}}$$

S/N Value	≤ 0.60	> 0.60
결과판정	양성	음성

## QUICK PROTOCOL



### 기술지원 및 문의

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

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