

# VDPro® 구제역바이러스 O형 항체 b-ELISA

(VDPro® FMDV Type O Ab b-ELISA)

CAT.NO. EM-FMD-05



## 1. 제품의 개요 및 원리

구제역은 제1종 법정전염병이자 국제수역사무국(OIE)에서 정하는 List A 질병으로, 돼지, 소, 염소 등 우제류 가족에 감염되는 해외전염병입니다. 이 질병은 전염력이 강한 질병으로 O, A, C, Asia1, SAT1, SAT2, SAT3의 7종의 혈청형이 있어 혈청형별로 다양한 진단법이 필요합니다.

VDPro® 구제역바이러스 O형 항체 b-ELISA 제품은 FMDV O형 유전자재조합 항원과 VP1 단백질에 반응하는 단클론 항체를 기반으로 한 차단 효소면역법(Blocking ELISA)을 이용한 체외진단용 제품입니다. 이 제품은 구제역바이러스 O형에 대한 백신접종이나 감염에 의한 항체를 검사 할 수 있으며, 돼지, 소, 염소의 혈청 시료에 적용할 수 있습니다.

FMDV Type O 항원이 고정화된 플레이트에 시료를 반응시켜 시료 내에 특이 항체가 존재하면 HRPO Anti-FMDV Conjugate (Type O)에 대한 반응이 차단되어 항체의 양에 따라 발색이 감소하며, 항체가 존재하지 않으면 항체에 대한 차단이 일어나지 않아 높은 발색이 나타납니다.

## 2. 제품의 구성

Reagents	192 Tests	480 tests
① FMDV Type O 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)	1.0mLX1	2.0mLX1
⑥ 참고대조 1 (Reference Control 1)	1.0mLX1	2.0mLX1
⑦ 참고대조 2 (Reference Control 2)	1.0mLX1	2.0mLX1
⑧ 음성대조 (Negative Control)	1.0mLX1	2.0mLX1
⑨ 발색제 (TMB Substrate)	30mLX1	70mLX1
⑩ 정지액 (Stop Solution)	20mLX1	40mLX1
⑪ 사용설명서	1부	1부

## 3. 검사 필요장비 및 소모품

- 1) 마이크로 피펫 및 팁(tip)
- 2) 혈청 희석용 플레이트 (별도 제공 없음)
- 3) 8 또는 12 채널 마이크로 피펫
- 4) 증류수
- 5) 판독기: ELISA reader (450nm)
- 6) ELISA plate용 자동 또는 반자동 세척기

## 4. 시약의 준비

- 1) 모든 시약들은 사용 전 실온(25±3°C)과 비슷하게 유지시킨 후 사용하며, 사용 전 살살 흔들어 섞어준 후 사용합니다.
- 2) 1X 세척액 (1X Washing Buffer) 준비
  - 10X Washing Buffer를 살살 흔들어 섞어줍니다.
  - 20 ml의 10X Washing Buffer를 180 ml의 증류수에 잘 혼합하여 사용합니다.

- 3) 발색제 (TMB Substrate) 준비

- 사용 전에 30분 동안 실온(25±3°C)에 유지시킨 후 사용합니다.  
- Plate 1장당 약 10 ml 이 소요됩니다.

## 5. 시료의 준비

- 1) 시료는 돼지, 소, 염소 혈청을 사용합니다.
- 2) 가급적 신선한 시료를 사용할 것을 권장하며, 시료는 검사 전 2주일까지 2~8°C의 냉장고에 보관할 수 있으며, 그 이후 사용 예정(15개월까지)일 때는 -20°C 이하의 냉동고에서 시료를 보관합니다.
- 3) 혈청이 오염되거나 과다한 지방성분으로 점도가 높고 이물질이 존재하는 경우 혹은 심하게 용혈된 시료는 가급적 사용하지 않습니다. 비특이 반응의 원인이 될 수 있습니다.

## 6. 사용시 유의사항

- 1) 검사에 사용되는 모든 시약은 사용 전에 25±3°C에 적응시킨 후 사용하며, 사용 후에는 2~8°C의 냉장고에 보관합니다.
- 2) 가급적 신선한 시료를 사용할 것을 권장하며, 시료는 검사 전 2주일까지 2~8°C의 냉장고에 보관할 수 있으며, 그 이후 사용 예정(15개월까지)일 때는 -20°C 이하의 냉동고에서 시료를 보관합니다.
- 3) 사용설명서를 잘 읽어본 후 모든 실험과정에 따라 제품을 사용합니다.
- 4) 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단제품 재료들은 폐기물 처리하여 폐기하도록 합니다.
- 5) 유효기간이 지난 시약은 사용하지 않습니다.
- 6) 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
- 7) 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의 하며 각 샘플마다 피펫을 교체하여 사용합니다.
- 8) 발색제 (TMB Substrate)와 HRPO Anti-FMDV Conjugate (Type O)가 서로 섞이지 않도록 합니다.
- 9) ELISA 플레이트는 가급적 1 플레이트 단위 (92두분)로 사용하며, 포장 내의 제습제의 색이 변형되어 분홍색을 띄거나 지퍼백의 지퍼가 열려있는 경우 검사에 사용하지 않습니다.
- 10) 개봉한 Strip Plate (8-well X 12) 제품의 남은 strip은 제습제가 포함된 지퍼백에 다시 넣어 보관하면서 사용합니다.
- 11) 세척과정을 실행 할 때는 모든 well이 세척액으로 완전히 채워지고 완전히 제거되는지 확인하고, 플레이트의 세척액을 버릴 때 strip이 빠지지 않도록 주의합니다.
- 12) 각 반응 용액마다 다른 리저버(reservoir)를 사용하고, 리저버는 재활용하여 사용하지 않습니다.
- 13) 본 제품은 각 백신 종류 (회사별)에 따라 양성률에 차이가 있습니다.
- 14) 본 제품의 검사결과는 다른 실험결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단해 최종 진단을 내려야 합니다.
- 15) 본 제품은 질병진단에 사용되는 체외진단시약으로 병성감정기관 등에서만 사용되어야 합니다 (축산농가 사용 제외).

# VDPro® 구제역바이러스 O형 항체 b-ELISA

(VDPro® FMDV Type O Ab b-ELISA)

CAT.NO. EM-FMD-05



MEDIAN Diagnostics

## 6. 검사 순서

- FMDV Type O 항원 흡착 플레이트를 실온 (25±3°C)에 두고 적응시킵니다.
  - 시료 희석은 혈청 희석용 플레이트(별도 제공 없음)의 각 well에 희석액을 분주한 후 시료 및 양/음성대조, 참고대조 1, 참고대조 2를 총 양의 1/5 로 넣고 잘 섞어준 후 사용합니다. 양/음성대조 및 참고대조 1, 참고대조 2는 각각 2 well씩 사용하여 검사하도록 합니다.  
(예: 희석액 100µl + 시료 25µl or 양/음성대조 & 참고대조 1, 2 25µl)
  - FMDV Type O 항원 흡착 플레이트의 각 well에 희석된 시료 및 양/음성대조 및 참고대조 1, 참고대조 2를 각각 100µl씩 분주합니다.
  - 실온(25±3°C)에서 1시간 반응시킵니다.
  - 반응액을 털어버리고 1X 세척액 (1X Washing Buffer) 300µl씩을 모든 well에 분주한 후 바로 털어버리는 과정을 3회 반복합니다.
  - 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.
  - HRPO Anti-FMDV Conjugate (Type O)를 각 well에 100µl씩 분주하고 실온(25±3°C)에서 1시간 반응시킵니다.
  - 위의 5)~6)번과 동일한 방법으로 세척합니다.
  - 발색제 (TMB Substrate)를 각 well에 100µl씩 분주하고 실온 (25±3°C)에서 15분간 반응시킵니다.
  - 15분 후 정지액 (Stop Solution)을 50µl씩 첨가하여 반응을 중지시킵니다.
  - 판독기 (ELISA Reader)의 450nm에서 흡광도 (A<sub>450</sub>)를 측정합니다.
- 육안으로 보아 음성대조의 발색반응이 15분 후에도 잘 안 될 경우 발색 반응시간을 30분까지 연장할 수 있습니다.
  - 정확한 측정을 위해서는 플레이트 well 내 거품 등 방해물을 제거한 후 판독하는 것을 권장합니다.

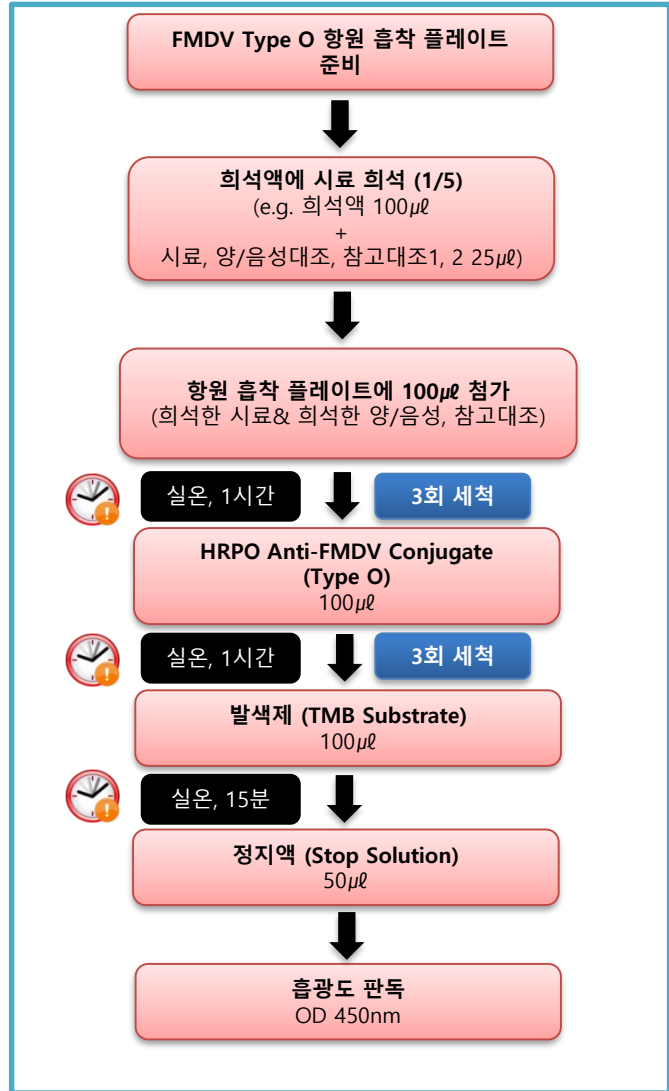
## 7. 결과 판독

- 유효성 평가 (Validation)
  - 양성대조 (Positive Control)
    - 참고대조 1 (Reference Control 1)
    - 평균 OD 값은 0.3 이하
    - 평균 S/N 값은 0.4 미만
  - 음성대조 (Negative Control)
    - 참고대조 2 (Reference Control 2)
    - 평균 OD 값은 0.6 이상
    - 평균 S/N 값은 0.6 초과
- 결과판정(Interpretation)
  - 시료의 S/N 값을 산출하여 판정합니다
  - 시료 중 S/N값이 1.00 이상일 경우도 음성으로 판정합니다.

$$S/N = \frac{OD \text{ of Sample (시료의 흡광도값)} - \text{Mean OD of Positive Control (양성대조의 평균 흡광도값)}}{\text{Mean OD of Negative Control (음성대조의 평균 흡광도값)} - \text{Mean OD of Positive Control (양성대조의 평균 흡광도값)}}$$

S/N Value	≤ 0.60	> 0.60
결과판정	양성	음성

## QUICK PROTOCOL



## 기술지원 및 문의

유효기간 내 제품은 고객센터기준에 의하여 제품교환이나 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)