

1. 제품의 개요

VDx[®] CEM qPCR은 말 전염성 자궁염 (Contagious Equine Metritis; CEM) 의 원인균인 **TE (Taylorella equigenitalis)** 감염의심 시료에 대해 16s rDNA 유전자를 실시간 증합효소 연쇄 반응법 (Real-time PCR)으로 증폭하여 원인균의 존재여부를 검사할 수 있는 유전자 검사 시약입니다. TE의 16s rDNA의 특이적인 유전자를 **TaqMan probe**를 이용하여 특이성 높게 검사합니다.

2. 제품의 특징

- 1) **VDx qPCR**은 유전자증폭에 필요한 Primer, 형광Probe, dNTP 및 Taq Polymerase 등 DNA로 부터 유전자를 증폭할 수 있도록 필요한 구성요소가 들어 있습니다.
- 2) 1회 시험 분량으로 소분된 상태로 공급되며, 시료에서 추출한 유전자 5 μ l을 첨가하여 즉시 real time PCR 검사를 할 수 있습니다.
- 3) 반응의 검증을 위한 Control DNA 을 제공하여 반응의 유효함을 확인 할 수 있습니다.

3. 제품의 구성

No	Reagents	CEM qPCR	
		48T	96T
1	premix	8T x 6strips	8T x 12strips
2	control DNA	100 μ l	100 μ l
3	manual	1부	1부

4. 검사 준비

4.1 검사용 시료의 준비

- 1) 말 생식기 swab 시료를 사용할 수 있습니다.
- 2) 시료는 가능한 신선한 것을 사용하고 보관 시에는 냉동보관 합니다.

4.2 Nucleotides의 추출

(QIAamp DNA Mini Kit기준)

- 1) 시료 150~300 μ l 로 부터 QIAamp DNA Mini Kit 을 사용하여 DNA 를 추출합니다. 유전자 추출 방법은 제조사의 설명서를 참고하십시오.
- 2) 추출한 유전자 5 μ l를 PCR 검사에 사용합니다 (사용하고 남은 검체 혹은 추출한 DNA 시료는 -20 °C 이하 냉동보관합니다).



주의 (Caution)

유전자 추출키트는 다른 제품의 사용이 가능하나 해당제조사의 사용설명서를 사전에 확인하십시오.

5. 검사방법

* premix(enzyme 및 시약)의 활성을 유지하기 위해 작업 시 ice 혹은 cool rack 을 이용하여 저온에서 작업할 수 있도록 합니다.

- 1) 제품에 포함된 probe는 FAM, IPC는 HEX가 부착되어 있으므로 PCR machine의 program 설정 시 detector를 **FAM** 과 **HEX**로 설정하여 주십시오 (HEX는 VIC 등 유사파장대의 다른 형광 dye로 검출 가능합니다.). 준비된 premix에 추출한 유전자 5 μ l 를 넣고 아래의 PCR Program과 같이 PCR을 실시합니다(이때 사용 PCR tube에 기포가 생기지 않도록 주의하며 spin-down 하여 tube 바닥으로 용액을 모이게 합니다.).
- 2) 음성 control로 H₂O 를 넣어 주시고, 양성 control로 control DNA를 넣어줍니다. Control DNA는 교차오염의 원인이 될 수 있으므로 아래의 유의사항을 참조하십시오.



주의(Caution): Control DNA의 사용

- 1) Control DNA는 반응의 유효성을 확인하기 위한 표준시약으로 시료에 오염되기 쉬우므로 Filter tip을 사용하고 가장 마지막에 첨가하거나 사용하십시오.
- 2) Real-time PCR은 민감도가 뛰어나 시료 handling 시 적은 양의 오염도 검출될 수 있으므로 control DNA 전용 pipette 을 구분하여 사용 권장합니다.

6. PCR Program

Step	PCR Cycle(20 μ l)		
	Temp	Time	Cycle
UDG reaction	50°C	2min	1 cycle
Initial inactivation	95°C	10min	1 cycle
Denaturation	95°C	10 sec	40 cycles
Annealing	60°C	40 sec	
Extension			
cooling	4°C	10 sec	1cycle

* ABI7500 경우 reference dye : none 설정 후 사용

7. 결과판정

- 1) 결과판정은 사용 PCR machine의 판독 기준에 따라 결정되며 해당 장비의 manual를 참고 합니다.
- 2) 음성 control이 음성(해당 IPC는 양성)으로 판독 되었을 때에만 정상적인 결과 판정을 진행합니다.
- 3) 반응 내부에 IPC(Internal positive control)이 있어 시료내 존재 가능한 저해제에 의한 반응의 영향성을 확인할 수 있습니다.
- 4) 결과 판정 예시는 아래와 같습니다.

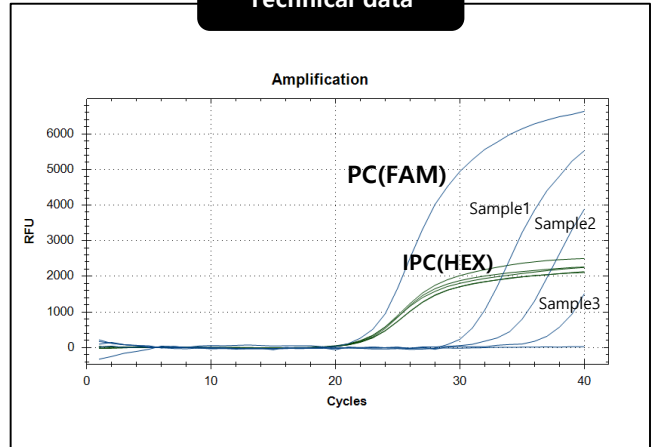
	Case1	Case2	Case3
FAM (TE)	POS	NEG	NEG
HEX (IPC)	POS / NEG	POS	NEG
결과 판독	양성	음성	재확인

* 그 외 검사결과가 나올 때는 제조사에 문의하여 주시기 바랍니다.

17. qRT-PCR premix내에 포함되어 있는 형광 probe 는 물질의 특성상 빛의 노출에 불안정하며 사용 시 가급적 빛의 노출을 피해 주시고, 보관 시에는 빛으로부터 완벽하게 차단한 뒤 냉동 (-20°C 이하)보관하여 주시기 바랍니다.

18. 본 제품의 검사결과와 다른 임상결과나 실험결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단하여 최종 진단을 내려야 합니다.

Technical data



사용 시 주의사항

1. 본 제품은 질병진단에 사용되는 동물용 체외진단시약으로 병성감정기관 등에서만 사용되어야 합니다(축산농가 사용제외).
2. 검체는 고위험성동물전염병으로 사용자에게 대한 안전사항 및 검사 후 실험실 내외 질병이 확산되지 않도록 주의하여 다루도록 합니다.
3. 검체는 말 생식기 swab 시료를 사용합니다.
4. 검체를 채취 및 수거 시에는 반드시 개인 보호장비(보호복, 마스크, 장갑, 보안경, 모자 및 신발등) 착용 후 수행합니다.
5. 채취한 검체는 4°C를 유지하여 빠른 시간 내 (24시간 이내)검사소로 송부합니다.
6. 검사 후 남은 의심검체, 오염된 실험재료 및 기구등은 폐기하고자 하는 경우 고압증기멸균 처리등으로 불활성화하여 폐기하며, 작업 테이블 등을 70% 에탄올을 이용하여 10~30분간 소독 처리하여 실험실 내외로 질병이 확산되지 않도록 합니다.
7. 제품과 시약은 -20°C 이하의 냉암소에서 유효기간 내에만 사용합니다.
8. 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
9. 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
10. 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, PCR 장비등의 기능이 정확한지 확인합니다.
11. 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
12. 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단제품 재료들은 폐기물 처리하여 폐기하도록 합니다.
13. 검사에 사용되는 모든 시약은 필요양만 꺼내어 해동하여 사용하고, 해동 후에는 ice batch 혹은 cool rack 에서 작업을 진행합니다. 사용하지 않는 premix는 -20°C 이하의 냉암소에 바로 넣어 보관합니다.
14. 교차오염을 방지하기 위해 primer mix, control DNA, 검체등을 사용 시에는 반드시 필터피펫팁을 사용하여 실험하며, 특히 control DNA 가 시료에 오염되는 것을 방지하기 위해 시료 주입 시에는 필터팁을 이용하여 가장 마지막에 첨가해 사용합니다.
15. 본 제품은 사용 PCR 장비의 성능(ramp rate, block type)에 따라 반응 감도 차이를 보일 수 있습니다. 사용전에 PCR 장비의 규격을 확인해 주시기 바랍니다.
16. Realtime PCR 장비 기종에 따라 동일시료에 대해서 Ct 값이 조금씩 차이가 날 수 있습니다.

8. 사용기간

본 제품은 -20°C 냉암소에서 제조일로부터 12개월, 개봉 후 6개월입니다.

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