

1. 제품의 개요 및 원리

VPro® Bovine Leukosis Ab b-ELISA 제품은 BLV 항원을 기반으로 Blocking ELISA를 이용한 체외 진단용 제품으로 BLV 감염에 의해 생성되는 소 항체 검사에 적용 할 수 있습니다. BLV 항원이 고정화된 플레이트에 가검 혈청을 첨가한 후, 효소가 결합된 HRPO Anti-BLV conjugate를 반응시키고 연속하여 발색제를 첨가합니다. 혈청 내에 특이 항체(Anti-gp51)가 존재하면 항체의 양에 비례적으로 conjugate가 반응하지 않아 발색제 첨가 후 발색반응이 나타나지 않게 됩니다. 반응 결과는 음성대조에 대한 가검 혈청의 흡광도 비(S/N, Sample to Negative control ratio)의 퍼센트를 사용하여 판정합니다.

2. 제품의 구성

Reagents		192tests	480tests
1)	BLV 항원 흡착 플레이트 (BLV Antigen Coated Plate)	2 plates	5 plates
2)	10X 세척액 (10X Washing Buffer)	120mLX1	240mLX1
3)	희석액 (Dilution Buffer)	30mLX1	60mLX1
4)	양성대조(Positive Control)	1.0mLX1	2.0mL X 1
5)	음성대조 (Negative Control)	1.0mLX1	2.0mL X 1
6)	HRPO Anti-BLV Conjugate	40mLX1	70mL X 1
7)	발색제 (TMB Substrate)	30mLX1	70mL X 1
8)	정지액 (Stop Solution)	20mLX1	40mL X 1
9)	사용설명서	1부	1부

3. 검사 필요장비 및 소모품

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

4. 시약 및 시료의 준비

- 1) 1X 세척액 (1X Washing Buffer)
 - 20mL의 10X Washing Buffer를 180mL의 증류수와 잘 혼합하여 사용합니다.
 - 96-well ELISA plate 1장에 약 200mL의 1X Washing Buffer가 소요됨
- 2) Substrate 준비
 - 발색제 (TMB Substrate)는 사용 전에 꺼내 실내 온도와 비슷하게 유지시킨 후 사용합니다.
 - Plate 1장당 약 10 mL 이 소요됨
- 3) 시료는 소 혈청을 사용하며, 검사 전 3일까지 2~8 °C에 보관하고 그 이후에는 -20°C 이하의 냉동고에서 시료를 보관합니다.
- 4) 혈청희석은 혈청 희석용 플레이트의 각 well에 희석액과 가검혈청을 1/2로 분주한 후 사용합니다.
 - (예: 희석액 60µL + 가검혈청 60µL or 양/음성 대조 60µL)
- 5) 혈청이 오염되거나 과다한 지방성분으로 점도가 높고 이물질이 존재하는 경우 혹은 심하게 용해된 시료는 가급적 사용하지 않습니다. 비특이 반응의 원인이 될 수 있습니다.

5. 사용시 유의사항

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) 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
- 5) ELISA 플레이트는 가급적 1 플레이트 단위 (92두분)로 사용하며, 포장 내의 제습제의 색이 변형되어 분홍색을 띄거나 지퍼백의 지퍼가 열려있는 경우 검사에 사용하지 않습니다.
- 6) 개봉한 플레이트는 제습제가 포함된 지퍼백에 다시 넣어 공기를 차단하고 밀봉하여 사용합니다.
- 7) 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단제품 재료들은 폐기물 처리해 폐기하도록 합니다.
- 8) 시약이 피부와 점막에 닿았을 시 비누와 물로 충분히 씻어 내십시오. 계속 불쾌감이 느껴지면 의사의 검진을 받으려 하며 물질안전보건자료를 담당 의사에게 보이도록 합니다.
- 9) 세척과정을 실행 할 때는 모든 well이 세척액으로 완전히 채워지고 완전히 제거되는지 확인 하고, 플레이트의 세척액을 버릴 때 strip이 빠지지 않도록 주의합니다.
- 10) 검사에 사용되는 모든 시약은 사용 전에 20~25°C 으로 맞추어 사용하며, 사용 후 냉장보관 (2~8°C) 하며 얼리지 않도록 합니다.
- 11) 각 반응 용액 마다 다른 리저버(reservoir)를 사용하고, 리저버는 재활용하여 사용하지 않습니다.
- 12) 본 제품의 검사결과는 다른 임상결과나 실험결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단해 최종 진단을 내려야 합니다.
- 13) 본 제품은 질병진단에 사용되는 체외진단시약으로 병성감정기관 등에서만 사용되어야 한다 (축산농가 사용 제외).

6. 검사 순서

- 1) 모든 구성품을 실온 (20~25°C)에 1시간 정도 적응시키고, 검사 전에 BLV 항원 흡착 플레이트를 지퍼백에서 꺼냅니다.
 - 2) 플레이트의 각 well에 희석된 가검혈청 혹은 양/음성대조를 각각 100µℓ씩 분주합니다.
 - 3) 37°C에서 1시간 반응시킵니다.
 - 4) 반응액을 털어버리고 1X 세척액(1X Washing Buffer) 300µℓ씩을 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-BLV Conjugate를 100µℓ씩 분주하고 37°C에서 1시간 반응시킵니다.
 - 7) 위의 4)~5)번과 동일한 방법으로 세척합니다.
 - 8) 발색제 (TMB Substrate)를 각 well에 100µℓ씩 분주하고 실온(20-25°C)에서 10분간 반응시킵니다.
 - 9) 10분 후 반응 정지액 (Stop Solution)을 50µℓ 씩 첨가하여 반응을 중지시킵니다.
 - 10) 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.

7. 결과 판독

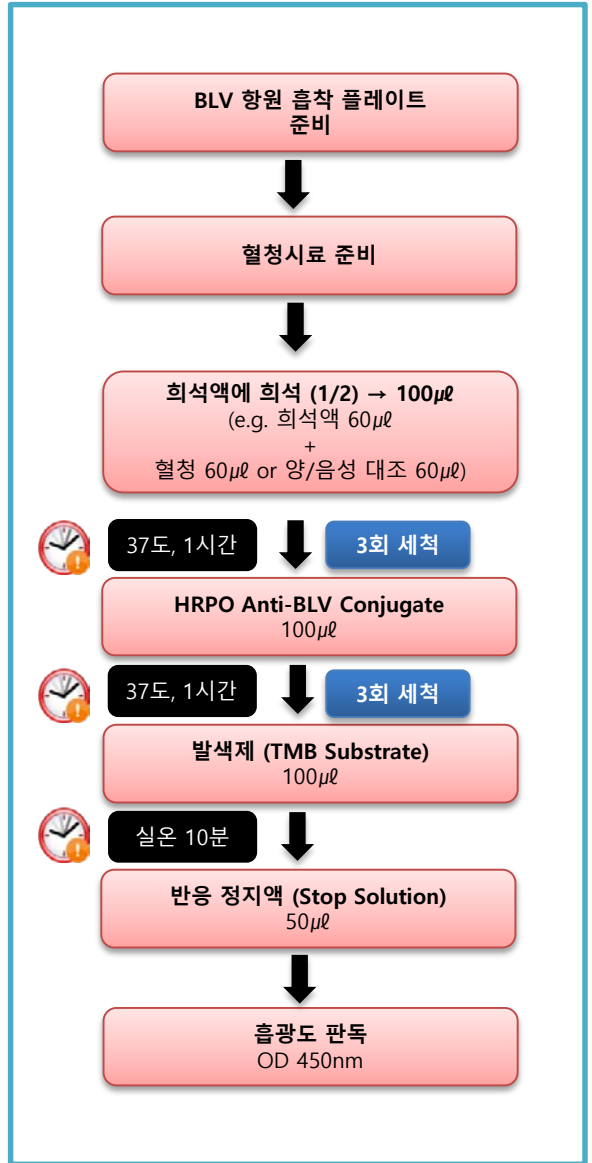
- 1) 유효성 평가 (Validation)
 - ◆ 양성대조 (Positive Control, PC)
평균 OD 값은 0.3 이하
 - ◆ 음성대조 (Negative Control, NC)
평균 OD 값은 0.5 이상
- 2) 결과판정(Interpretation)
가검시료의 S/N ratio의 퍼센트(%)를 산출하여 판정합니다.

$$S/N(\%) = \frac{\text{가검혈청 평균흡광도}}{\text{음성대조 평균흡광도}} \times 100$$

S/N(%) Value	< 40	≥ 40
결과판정	양 성	음 성

- ◆ 가검시료 중 결과값이 100% 이상일 경우도 음성으로 판정합니다.

QUICK PROTOCOL



기술지원 및 문의
유효기간 내 제품은 고객센터기준에 의하여 제품교환이나 기술지원을 요청하실 수 있습니다.

문의처: (주) 메디안디노스틱 품질보증본부
200-883 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878
전화 033-244-0100, 팩스 033-244-4634
median@mediandx.com