

# VDPPro<sup>®</sup> ASFV Ab i-ELISA ver 2.0

Cat No. ES-ASF-05

For *in-vitro* veterinary diagnostic use only

## 제품의 개요 및 원리

아프리카돼지열병 (African Swine Fever; ASF)은 Asfvirus속에 속하는 아프리카돼지열병 바이러스 (African Swine Fever Virus, ASFV)가 원인체이며 세계동물보건기구 (OIE)에서 정하는 List A 질병으로 치명적인 바이러스성 출혈성 돼지 전염병이며, 이병률이 낮은 편이지만 급성형에 감염되면 치사율이 거의 100%에 이르고, 한번 전파된 곳은 근절이 매우 어렵기 때문에 양돈 산업에 엄청난 피해를 주는 질병입니다.

VDPPro<sup>®</sup> ASFV Ab i-ELISA ver 2.0는 돼지에서 아프리카돼지열병 감염에 의해 생성되는 ASFV에 대한 항체의 존재여부를 검사하는 제품입니다.

## 제품의 구성

No.	Reagents	192 Tests/Kit	480 Tests/Kit
1	ASFV 항원 흡착 플레이트 (ASFV Antigen Coated Plate)	2개	5개
2	10X 세척액 (10X Washing Buffer)	120 ml x 1	240 ml x 1
3	희석액 (Dilution Buffer)	120 ml x 1	240 ml x 1
4	HRPO Conjugate	40 ml x 1	70 ml x 1
5	양성대조 (Positive Control)	3 ml x 1	7 ml x 1
6	음성대조 (Negative Control)	3 ml x 1	7 ml x 1
7	발색제 (TMB Substrate)	30 ml x 1	70 ml x 1
8	정지액 (Stop Solution)	20 ml x 1	40 ml x 1
9	사용설명서	1부	1부

## 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

## 시약의 준비

1. 모든 시약들은 사용 전 실온(25±3°C)과 비슷하게 유지시킨 후 사용하며, 사용 전 살살 흔들어서 섞어준 후 사용합니다.
2. 1X 세척액 (1X Washing Buffer) 준비
  - 10X Washing Buffer를 살살 흔들어서 섞어줍니다.
  - 20ml의 10X Washing Buffer를 180ml의 증류수에 잘 혼합하여 사용합니다.
3. 발색제 (TMB Substrate) 준비
  - 사용 전에 30분 동안 실온 (25±3°C)에 유지시킨 후 사용합니다.
  - Plate 1장당 약 10ml이 소요됩니다.

## 시료의 준비

1. 시료는 돼지 혈청을 사용합니다.
2. 가급적 신선한 시료를 사용할 것을 권장하며, 시료는 검사 전 2주일까지 2~8°C의 냉장고에 보관할 수 있으며, 그 이후 사용 예정 (12개월까지)일 때는 -20°C 이하의 냉동고에서 시료를 보관합니다.
3. 혈청이 오염되거나 과도한 지방성분으로 점도가 높고 이물질이 존재하는 경우 혹은 심하게 용혈된 시료는 가급적 사용하지 않습니다. 비특이 반응의 원인이 될 수 있습니다.

## 사용시 유의사항

1. 검사에 사용되는 모든 시약은 사용 전에 25±3°C에 적응시킨 후 사용하며, 사용 후에는 2~8°C의 냉장고에 보관합니다.
2. 사용설명서를 잘 읽어본 후 모든 실험과정에 따라 제품을 사용합니다.
3. 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단 제품 재료들은 폐기물 처리하여 폐기하도록 합니다.
4. 유효기간이 지난 시약은 사용하지 않습니다.
5. 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
6. 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의 하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
7. 발색제 (TMB Substrate)와 HRPO Conjugate가 서로 섞이지 않도록 합니다.
8. ELISA 플레이트는 가급적 1 플레이트 단위 (92두분)로 사용하며, 포장 내의 제습제의 색이 변형되어 분홍색을 띄거나 지퍼백의 지퍼가 열려 있는 경우 검사에 사용하지 않습니다.
9. 개봉한 Strip Plate (8-well X 12) 제품의 남은 strip은 제습제가 포함된 지퍼백에 다시 넣어 보관하면서 사용합니다.
10. 세척과정을 실행 할 때는 모든 well이 세척액으로 완전히 채워지고 완전히 제거되는지 확인하고, 플레이트의 세척액을 버릴 때 strip이 빠지지 않도록 주의합니다.
11. 각 반응 용액마다 다른 리저버 (reservoir)를 사용하고, 리저버는 재 활용하여 사용하지 않습니다.
12. 본 제품의 검사결과는 다른 실험결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단해 최종 진단을 내려야 합니다.
13. 본 제품은 질병진단에 사용되는 체외진단시약으로 병성감정기관 등에서만 사용되어야 합니다 (축산농가 사용 제외).

# VPro<sup>®</sup> ASFV Ab i-ELISA ver 2.0

Cat No. ES-ASF-05

For *in-vitro* veterinary diagnostic use only

## 검사 순서

- 모든 구성품을 실온 (25±3°C)에 두고 적응시킵니다.
- 시료 희석은 혈청 희석용 플레이트(별도 제공 없음)의 각 well에 희석액을 분주한 후 시료를 총 양의 1/100로 넣고 잘 섞어준 후 사용합니다. 양/음성 대조는 희석하지 않으며 각각 2 well씩 사용하여 검사하도록 합니다.  
(예: 희석액 495µl + 시료 5µl, 양/음성대조는 희석하지 않음)
- ASFV 항원 흡착 플레이트의 각 well에 희석된 시료 및 양/음성 대조를 각각 100µl씩 분주합니다.
- 실온 (25±3°C)에서 45분 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 Conjugate를 각 well에 100µl씩 분주하고 실온 (25±3°C)에서 30분 반응시킵니다.
- 위의 5~6번과 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 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 판독하는 것을 권장합니다.

## 결과 판독

- 유효성 평가 (Validation)
  - 양성대조 (Positive Control)
    - 평균 OD 값은 0.5 이상
  - 음성대조 (Negative Control)
    - 평균 OD 값은 0.3 미만
- 결과 판정 (Interpretation)
  - 가검시료의 S/P ratio를 산출하여 판정합니다.

$$S/P = \frac{\text{가검시료 평균 OD}}{\text{양성대조 평균 OD}}$$

S/P Value	≥ 0.25	< 0.25
결과판정	양성	음성

→ 시료 중 S/P 값이 4.0 이상일 경우도 양성으로 판정합니다.

## QUICK PROTOCOL

- 혈청 희석용 플레이트에 희석 (1/100)  
(예: 희석액 495 µl + 혈청 5 µl  
양/음성대조는 희석하지 않음)



- ASFV 항원 흡착 플레이트 준비



- 항원 흡착 플레이트에 희석된 시료 및 양/음성대조 100 µl 첨가



실온(25 ± 3°C)



3회 세척

- HRPO Conjugate 100 µl



실온(25 ± 3°C)



3회 세척

- 발색제 (TMB Substrate) 100 µl



실온(25 ± 3°C)



- 정지액 (Stop Solution) 50 µl



- 흡광도 판독  
OD 450 nm



MEDIAN Diagnostics



(주)메디안디노스틱

### 기술지원 및 문의

유효기간 내 제품은 고객 서비스 기준에 의하여 제품 교환이나 기술지원을 요청하실 수 있습니다.

문의처 : (주) 메디안디노스틱 품질보증본부  
24399 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878  
전화 : 033-244-0100 / 팩스 : 033-244-4634  
이메일 : median@mediandx.com