

VDPro® 조류인플루엔자 바이러스 항체 ELISA

(VDPro® AIV AB ELISA)

CAT.NO. EP-AIV-01



1. 제품의 개요 및 원리

VDPro® AIV AB ELISA 제품은 AIV (H9N2)에서 유래한 유전자 재조합 NP (rNP) 항원을 기반으로 한 간접 ELISA (Indirect ELISA)을 이용한 체외진단용 제품으로 조류인플루엔자 바이러스(AIV)에 대한 항체를 정량적으로 검출하여 계군의 항체수준검사와 모체이행 항체 검사에 사용할 수 있습니다.

본 제품은 개체보다는 계군 검사에 적합합니다.

2. 제품의 구성

Reagents	480 Tests
1) AIV(H9N2주) 유전자 재조합 rNP 항원 흡착 플레이트 (AIV H9N2 rNP Coated Plate)	5 plates
2) 10X 세척액 (10X Washing Buffer)	240ml X 1
3) 희석액 (Dilution Buffer)	240ml X 1
4) 양성대조(Positive Control, PC)	7.0ml X 1
5) 음성대조 (Negative Control, NC)	7.0ml X 1
6) HRPO Anti-Chicken IgG Conjugate	70ml X 1
7) 발색제 (TMB Substrate)	70ml X 1
8) 정지액 (Stop Solution)	40ml X 1
9) 사용설명서	부

3. 검사 필요장비 및 소모품

- 1) 마이크로 피펫 및 팁(tip)
- 2) 혈청 희석용 DWP (Deep Well Plate)
- 3) 8 또는 12 채널 마이크로 피펫
- 4) 피펫 및 피펫 에이드
- 5) 증류수 (시판 주사용 증류수 사용가능)
- 6) 판독기: ELISA reader (450nm)
- 7) 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) 시료는 비동화 또는 비동화 하지 않은 혈청을 사용 하며, 검사 전 까지 -20°C 이하 냉동고에서 시료를 보관 합니다.
- 2) 혈청희석은 다음과 같이 선택하여 진행합니다.
A. 혈청에 대해 여러 종류 질병을 한번에 검사하는 경우, Deep Well Plate (1ml DWP)의 각 well에 희석액을 1ml씩 분주한 후 가검혈청을 2µl씩 분주하여 사용합니다 (희석배수 1/500).
B. AIV 항체만 검사하는 경우 Deep Well Plate (1ml DWP)의 각 well에 희석액을 0.5ml씩 분주한 후 가검혈청을 1µl씩 분주하여 사용합니다 (희석배수 1/500).



양성대조(Positive Control, PC)와 음성대조(Negative Control, NC)는 희석하지 않습니다.

6. 사용시 유의사항

- 1) 제품은 2~8°C의 냉장소에서 보관하십시오.
- 2) 제품이 냉동되면 발색반응이 이루어지지 않을 수 있으니 유의하십시오.
- 3) 유효기간이 지난 시약은 사용하지 않습니다.
- 4) 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
- 5) 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
- 6) 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, 세척기, 판독기 등의 기능이 정확하지 확인합니다.
- 7) 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의 하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
- 8) ELISA 플레이트는 가끔적 1플레이트 단위 (92부분)로 사용 하며, 포장 내의 제습제의 색이 변형되어 분홍색을 띄거나 지퍼백의 지퍼가 열려있는 경우 검사에 사용하지 않습니다.
- 9) Strip Plate (8-well X 12) 제품의 남은 strip은 지퍼백에 다시 넣어 보관하면서 사용합니다.
- 10) 시약의 사용시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단제품 재료들은 폐기물 처리하여 폐기하도록 합니다.
- 11) 세척과정을 실행 할 때는 모든 well이 세척액으로 완전히 채워지고 완전히 제거되는지 확인 하고, 플레이트의 세척액을 버릴 때 strip이 빠지지 않도록 주의합니다.
- 12) 개봉한 플레이트는 1주일 이내에 제습제가 포함된 지퍼백에 넣어 공기를 차단하고 개봉 후 1주일 이내에 사용합니다.
- 13) 검사에 사용되는 모든 시약은 사용 전에 25±3°C 으로 맞추어 사용합니다.
- 14) 각 반응 용액마다 다른 리저버(reservoir)를 사용하고, 리저버는 재활용하여 사용하지 않습니다.

VPro® 조류인플루엔자 바이러스 항체 ELISA

(VPro® AIV AB ELISA)

CAT.NO. EP-AIV-01



7. 검사 순서

- 1) AIV(H9N2주) 유전자 재조합 rNP 항원 흡착 플레이트를 실온에 두고 10~20분 가량 방치합니다.
 - 2) 플레이트의 각 well에 희석된 가검혈청을 100μl씩 분주합니다.
 - 3) 플레이트에 희석하지 않은 양성대조와 음성대조를 각각 100μl씩 넣습니다.
- ❖ 양/음성대조 희석하지 마십시오.
- 4) 실온(25±3°C)에서 30분 반응시킵니다.
 - 5) 반응액을 털어버리고 1X 세척액(1X Washing Buffer) 300μl씩을 모든 well에 분주한 후 바로 털어버리는 과정을 3회 반복합니다.
 - 6) 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.
 - 7) HRPO Anti-Chicken IgG Conjugate를 100μl씩 분주하고 실온(25±3°C)에서 30분 반응시킵니다.
 - 8) 위의 5)~6)번과 동일한 방법으로 세척합니다.
 - 9) 발색제 (TMB Substrate)를 각 well에 100μl씩 분주하고 실온에서 15분간 반응시킵니다.
 - 10) 15분 후 정지액 (Stop Solution)을 50μl 씩 첨가하여 반응을 중지시킵니다.
 - 11) 판독기 (ELISA Reader)의 450nm에서 흡광도(A₄₅₀)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 0.35 이상
 - ◆ 음성대조 (Negative Control, NC)
평균 OD 값은 0.2 이하
- 2) 결과판정(Interpretation)
가검시료의 S/P ratio을 산출하여 판정합니다.

$$S/P = \frac{(\text{가검혈청 평균흡광도} - \text{음성대조 평균흡광도})}{(\text{양성대조 평균흡광도} - \text{음성대조 평균흡광도})}$$

S/P Value	≥ 0.50	< 0.50
결과판정	양 성	음 성

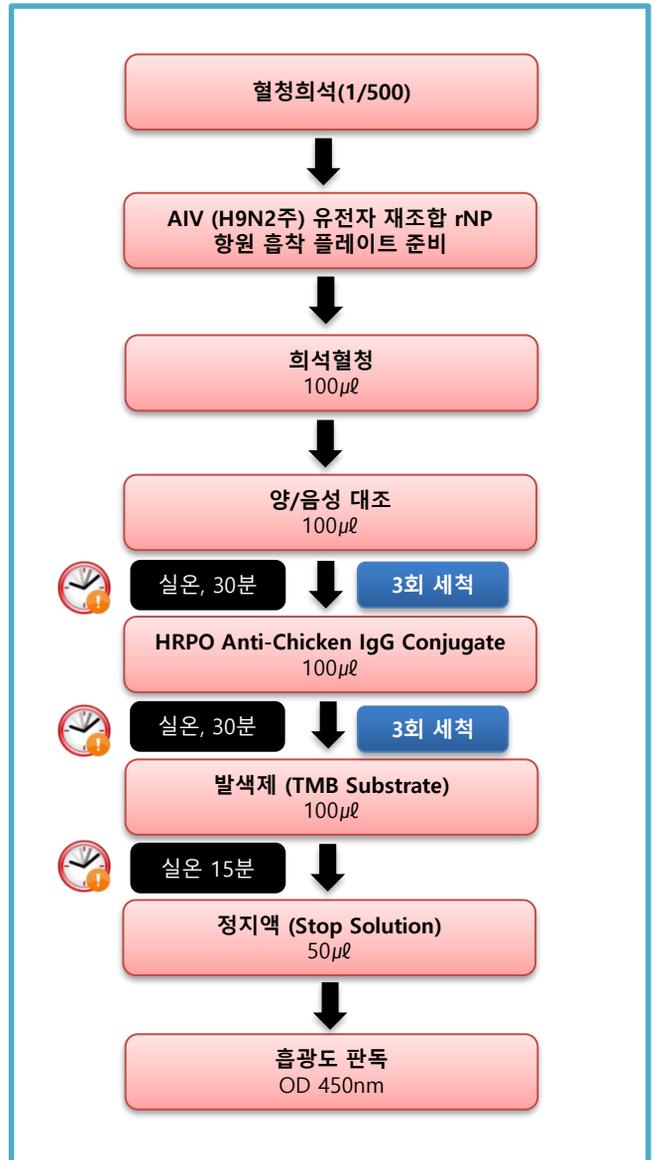
ELISA 역가 (ELISA titer) 계산

1/500으로 희석된 시료의 역가 계산식(Log titer)

$$\text{Log titer} = 1.5 \times \text{Log}(S/P) + 3.07$$

Log titer는 AIV에 대한 ELISA 항체역가를 말하며 혈구응집억제반응(HI) 역가와 높은 상관관계를 나타내지만 동일한 역가를 나타내는 것은 아님.

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