

### 01 제품 개요

Opti PRRSV/PCV2 Multi-qPCR은 돼지생식기호흡기중 후군바이러스 (Porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV) 북미형/유럽형 감별 및 썬코 바이러스(PCV2) 감염이 의심되는 시료에 대해 특이 유전자를 실시간 중합효소연쇄반응법(Real-time PCR)으로 증폭하여 바이러스의 존재여부를 검사하는 체외 진단시약입니다.

### 02 제품 특성

- (1) Opti PRRSV/PCV2 Multi-qPCR은 유전자증폭 (PCR)에 필요한 Primer, 형광 Probe, RT mix, Taq Polymerase 등 RNA로부터 유전자를 증폭하기 위한 필수 구성요소가 들어있습니다.

### 03 제품 구성

NO.	REAGENTS	96T
1	8-strip	8*12 strip
2	Positive control (PC)	100μl/vial, 1개

### 04 검사 준비

#### 4.1 검체 준비 및 저장방법

- (1) 조류에서 유래된 혈액, 혈청, 조직 유제액 등을 무균용기에 넣어 밀봉된 상태로 채취한 후, 즉시 RNA를 추출하도록 합니다.

! 검체 채취 후 4°C를 유지하며 24시간 이내에 검사소로 송부하여, 바로 RNA를 추출해야 합니다. 검체를 오랜 기간 보관하거나 냉동과 해동을 반복하면 검사 민감도가 떨어질 수 있습니다.

#### 4.2 검체 전처리 및 핵산 추출 등

- (1) 100~200μl 혈액, 혈청 및 조직 등에서 RNA를 추출하며, RNA 추출 방법은 각 제조사의 설명서를 참고하십시오.
- (2) 추출한 RNA는 PCR을 수행할 때까지 -20°C에 보관하며, 냉동 보관된 모든 검사 시약은 실험 전에 아이스에서 녹입니다.

! 본 제품은 RNA를 추출하는 별도의 시약을 제공하지 않으며, 사용하는 RNA 추출 Kit의 해당 사용 설명서에 따라 진행하시길 바랍니다.

- (3) Real-time PCR 기기를 95°C로 예열합니다.

### 05 PCR 검사

#### 05.1 PCR Master mixture 조성

- (1) 검사하려고 하는 시료의 수, 양성대조군, 음성대조군에 여분을 고려하여 8-strip을 준비하도록 합니다.
- (2) 8-strip에 template 및 양성 대조액을 5μl를 각각 분주합니다.

Opti PRRSV/PCV2 Multi-qPCR

User Manual

## (Cat. No. SWVM-013)

(3) 뚜껑을 닫고 살짝 tapping하여 섞어준 후 원심분리 (spin-down)를 합니다

(2) 음성 대조군이 음성으로, 양성대조군(PC)이 양성(Ct값 18±3)으로 판독되었을 때에 정상적인 결과 판정을 진행하며, Ct값 35 이하의 범위 내에서의 결과를 양성으로 판독합니다.

### 05.2 PCR 증폭 진행

(1) 샘플을 Real-time PCR 기기에 넣어 다음 표의 조건으로 반응을 진행합니다.

NO.	온도 및 시간	Cycle
1	50°C, 10min (Reverse transcription)	1 cycle
2	95°C, 3min (Pre-denaturation)	1 cycle
3	95°C, 3sec (Denaturation)	10 cycle
4	60°C, 30sec (Annealing)	
5	95°C, 3sec (Denaturation)	40 cycle <b>(plate read)</b>
6	55°C, 30sec (Annealing)	

(3) 결과 분석은 다음 표와 같습니다.

Amplification Signal	결과 분석
FAM 양성	양성 (PRRSV NA)
Cal Red610 양성	양성 (PRRSV EU)
Cy5 양성	양성 (PCV2)
FAM 양성, Cal Red610 양성	양성 (PRRSV NA/EU 혼합형)
FAM 양성, Cy5 양성	양성 (PRRSV NA/PCV2 혼합감염)
Cal Red610 양성 Cy5 양성	양성 (PRRSV EU/PCV2 혼합감염)
FAM 음성, Cal Red610 음성 Cy5 음성	음성, IC에서 음성이나온 경우, 검체 양이 너무 많거나 적은 경우이므로 재검사가 필요함

PCR 기계에서 dye 설정 시에는, FAM/CalRed610/Cy5 한 well에서 설정될 수 있도록 지정합니다.

## 07 사용 기간

Opti PRRSV/PCV2 Multi-qPCR은 -20°C에서 제조일로부터 12개월(유효기간)이내에 사용해야 하며, 시약의 반복적인 냉동과 해동은 검사의 민감도에 영향을 미칠 수 있습니다.

## 06 결과판정

(1) 반응의 결과는 Real-time PCR 기기에서 실시간으로 측정되며, threshold은 자동으로 설정된 값을 기준으로 Ct값을 확인합니다.

### <사용 시 주의사항>

#### 1. 주의사항

- ① 본 제품은 질병진단에 사용되는 동물용 체외 진단시약으로 병성감정기관 등에서만 사용합니다.(축산농가 사용제외)
- ② 검체는 위험성동물전염병으로 사용자에게 대한 안전사항 및 검사 후 실험실 내외 질병이 확산되지 않도록 주의하여 다루도록 합니다.
- ③ 본 키트로 확인된 결과는 확진용으로 사용할 수 없으며, 다른 검사방법과 임상소견에 근거한 수의사의 판단에 의해서 최종진단을 내려야 합니다.
- ④ 본 제품은 일회용 의료기기이므로 재사용을 금지합니다.

#### 2. 제품 취급 및 보관상의 주의사항

- ① 검사에 적용 가능한 검체는 돼지에서 유래된 혈액, 혈청, 조직시료 등을 사용합니다.
- ② 검체를 채취 및 수거 시에는 반드시 개인 보호장비(보호복, 마스크, 장갑, 보안경, 모자 및 신발 등)를 착용 후 수행하고 채취한 검체는 4°C를 유지하여 빠른 시간 내 (24시간 이내) 검사소로 송부합니다.
- ③ 검사 후 남은 의심검체, 오염된 실험재료 및 기구 등을 폐기하고자 하는 경우 고압증기멸균 처리등으로 불활성화하여 폐기하며, 작업테이블 등을 70% 에탄올을 이용하여 10~30분간 소독처리하여 실험실 내외 질병이 확산되지 않도록 합니다.
- ④ 검사에 사용하기 위한 RNA 추출물은 -20°C에서 보관하고, 냉동 보관된 모든 검사 시약은 실험 전에 아이스에서 녹이도록 합니다.
- ⑤ 시약의 반복적인 냉동과 해동은 검사의 민감도에 영향을 미칠 수 있습니다.
- ⑥ 검사를 자주하지 않을 경우, 시약의 일정량을 분주하여 냉동 보관하여 사용합니다.
- ⑦ 본 제품의 시약이 핵산 추출물, PCR 산물, 양

성 대조군 (Positive control, PC)에 의해 오염되지 않도록 주의합니다.

#### 3. 적용상의 주의사항

- ① 양성결과가 나올 수 있는 물질(검체, 양성대조군, 그리고 증폭산물 등)은 다른 모두 검사 시약들과 분리 보관합니다. 그리고 반응혼합물에 검체 및 양성대조군은 분리된 장소에서 혼합하며, 시약들의 오염을 방지하기 위해서 필터팁의 사용을 추천합니다.
- ② Real-time PCR에 사용하는 튜브는 Taqman probe 전용으로 사용해야 합니다. (Bio-Rad사 CFX96 기준 Taqman probe 전용 PCR tube-Cat No. TLS0851 / MLL9651)
- ③ 동일 제품에 대해 다른 Lot 혹은 동일 Lot의 시약 간 혼합을 금합니다.
- ④ 유효기간이 지난 제품은 사용하지 않습니다.
- ⑤ 본 제품 시약들의 오염을 방지하기 위해서 일회용 필터 팁의 사용을 권장합니다.
- ⑥ 타겟 핵산이 고농도로 존재하거나, 저해물질이 존재할 경우 Internal control(IC)가 증폭되지 않을 수 있습니다. 멸균수로 핵산을 희석하여 재검사를 수행합니다.
- ⑦ Roche 사 LightCycler®96 의 경우, 기기 상의 오류가 발생할 수 있기 때문에 본 제품을 이용한 진단 시 사용을 권장하지 않습니다.