

## RIDASCREEN® Rotavirus

**REF** C0901



## 1. Kullanım amacı

*In vitro* tanı amaçlı kullanım içindir. RIDASCREEN® Rotavirus, insan gaita örneklerinde rotavirüslerin kalitatif olarak belirlenmesine yönelik bir enzim immünolojik tahlilidir.

## 2. Testin özeti ve açıklaması

Rotavirüsler, 6 aylık ila 3 yaş grubundaki çocuklar arasında bakteriyel olmayan gastroenteritle ilişkili başlıca patojenlerdir. Bunlar ayrıca daha büyük çocuklarda ve yetişkinlerde de hastalık nedeni olarak belirlenebilmektedirler. Risk gruplarında – çocuklar, yaşlılar ve bağışıklıkları baskılanmış hastalar – bu enfeksiyonlar ölümcül olabilir.

Rotavirüs enfeksiyonları esas olarak kış aylarında ortaya çıkar. Endemik vakalar ve birkaç bin hastalı epidemiler de bildirilmiştir. Akut enteritle hastaneye yatırılan çocuklarda, incelenen örneklerin % 50'ye kadarı rotavirüs pozitif bulunmuştur. Rotavirüsler, fekal-oral yolla aktarılır ve bunlar bağırsaklardan büyük miktarlarda dışarı atılırlar, bu nedenle, yenidoğan bakım ünitelerinde ve pediatri kliniklerinde nozokomiyal rotavirüs enfeksiyonlarından çok korkulur ve bunların yönetilmesi zordur. Yani enfeksiyonun yayılmasını önlemek için rotavirüsün erken ve güvenilir bir şekilde belirlenmesine yönelik bir yöntem çok önemlidir.

Gaita örnekleri ve bağırsaklardan biyopsi materyalleri elektron mikroskopuyla incelenebilene kadar rotavirüsleri saptamak olanaklı olmamıştır – günümüzde bu, standart belirleme yöntemidir. Başka bir gelişme de hücre kültürlerinde *in vitro* belirlemedir. Ancak bu zor olduğu ve zaman aldığı için, rotavirüsleri belirlemede rutin olarak kullanılmamaktadır. Serolojik testler yalnızca bir rotavirüs enterit tanısını doğrulamaya yardım ederler, çünkü IgM antikoru hastalık başladıktan sonraki 5. Günden önce saptanamamaktadır. Bu yöntemde bir erken tanı olanaklı değildir. RIDASCREEN® Rotavirus Testi, rotavirüs antijenlerinin erken ve güvenilir bir şekilde belirlenmesini olanaklı kılan, basit ve son derece duyarlı bir enzim immünolojik tahlil yöntemidir. Büyük örnek boyutları da kısa sürelerle işlenebilmektedir.

## 3. Test prensibi

RIDASCREEN® Rotavirus Test, monoklonal antikoru sandviç tipi bir yöntemde kullanır. 6. viral genin (VP6) ürününe yönelik bir monoklonal antikor, mikro-kuyucuk plakasının kuyucuk yüzeyine kaplanır. Bu, insanlarda hastalığa neden olan tüm *rotavirus*'lerde bulunan gruba özgü bir antijendir. Oda sıcaklığında (20 - 25 °C) inkübasyon için, incelenecek gaita örneğinin yanı sıra kontrol numunelerinin bir süspansiyonunu, mikro-kuyucuk plakasının kuyucuğuna, biyotinli monoklonal anti-rotavirüs antikoruyla (Konjugat 1) birlikte yerleştirmek için bir pipet kullanılır. Bir yıkama adımından sonra, streptavidin poli-peroksidaz konjugatı (Konjugat 2) eklenir ve oda sıcaklığında (20 - 25 °C) inkübe edilir. Gaita örneğinde rotavirüsler bulunduğunda, immobilize antikoru, rotavirüs antijenlerini ve biyotin-streptavidin-

peroksidaz kompleksiyle konjuge edilmiş antikoları içeren bir sandviç kompleksi oluşacaktır. Başka bir yıkama adımı, bağlanmamış streptavidin poli-peroksidaz konjugatını uzaklaştırır. Substrat eklendikten sonra, test pozitifse, bağlanan enzim, mikro-kuyucuk plakasının kuyucuklarında daha önceki renksiz solüsyondan maviye renk değiştirir. Bir durdurma reaktifinin eklenmesi, rengi maviden sarıya değiştirir. Ekstinksiyon, numunede bulunan rotavirüslerin konsantrasyonuyla orantılıdır.

#### 4. Sağlanan reaktifler

Kitte sağlanan reaktifler 96 belirleme için yeterlidir.

Plate	96	Mikro-kuyucuk plakası, strip tutucuda 12 mikro-kuyucuk stripi (bunlar bölünebilirdir); monoklonal anti-rotavirüs antikolarıyla kaplı (fare)
Diluent   1	100 ml	Örnek seyreltme tamponu, protein-tamponlu NaCl solüsyonu; kullanıma hazır, mavi renkli
Wash buffer	100 ml	Yıkama tamponu, fosfat tamponlu NaCl solüsyonu (10 kat konsantre); % 0,1 timerosal içerir
Control   +	2 ml	Pozitif kontrol; inaktive rotavirüs kültürü; kullanıma hazır
Control   -	2 ml	Negatif kontrol (örnek seyreltme tamponu); kullanıma hazır
Conjugate   1	13 ml	Protein solüsyonunda stabilize rotavirüslere karşı biyotin-konjuge monoklonal antikolar (fare); kullanıma hazır, kırmızı renkte
Conjugate   2	13 ml	Stabilize protein solüsyonunda streptavidin poli-peroksidaz konjugat; kullanıma hazır; turuncu renkte
Substrate	13 ml	Hidrojen peroksit/TMB; kullanıma hazır
Stop	12 ml	Durdurma reaktifi; 1 N sülfürik asit; kullanıma hazır

Tehlikeli maddeler, etiketleme yükümlülüklerine göre belirtilmiştir. Daha fazla ayrıntı için, [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com) adresindeki Güvenlik Veri Formlarına (SDS) başvurun.

#### 5. Saklama talimatları

Tüm reaktifler 2 - 8 °C'de saklanmalıdır ve etikette basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilirler. Seyreltilmiş yıkama tamponu 2 - 8 °C'de saklanmış olması şartıyla, maksimum 4 hafta boyunca kullanılabilir. Mikrobiyal kontaminasyon önlenmelidir. Son kullanma tarihinden sonra, kalite garantisi artık geçerli değildir.

Alüminyum torba, klip mühür yırtılmayacak şekilde makasla açılmalıdır. Gerekli olmayan mikro-kuyucuk stripleri alüminyum torbaya geri konulmalı ve hemen 2 - 8 °C'de saklanmalıdır.

Renksiz Substrat, ayrışmasını veya oto-oksidasyon nedeniyle maviye dönmesini önlemek için doğrudan ışıktan korunmalıdır. Substrat maviye döndükten sonra kullanılmamalıdır.

## 6. Gerekli olan ama sağlanmayan reaktifler

### 6.1 Gerekli reaktifler

Aşağıdaki reaktifler RIDASCREEN® Rotavirus testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Reaktifler
Distile veya deiyonize su

### 6.2 Gerekli laboratuvar ekipmanları

Aşağıdaki ekipmanlar RIDASCREEN® Rotavirus testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Ekipman
Test tüpleri
Tek kullanımlık pipetler (Artikel no.: Z0001)
Vorteks karıştırıcı (opsiyonel, bkz. 9.3.)
50 - 100 µl ve 1 ml hacim için mikro-pipet
Ölçüm silindiri (1.000 ml)
Kronometre
Mikro-titrasyon plakaları için yıkama cihazı veya çok kanallı pipet (300 µl)
Mikro-titrasyon plakaları için fotometre (450 nm, referans filtresi 620-650 nm)
Filtre kağıdı (laboratuvar havluları)

## 7. Uyarılar ve önlemler

Yalnızca *in vitro* tanı amaçlıdır.

Bu test, sadece eğitimli laboratuvar personeli tarafından yapılmalıdır. Tıbbi laboratuvarlarda çalışma yönergelerine uyulmalıdır. Bu test için kullanıcı talimatlarına her zaman kesinlikle uyun. Numuneler veya reaktifler, ağızdan pipetle alınmamalıdır ve yaralı cilt veya mukoz membranlarla temas etmeleri önlenmelidir. Numuneleri kullanırken kişisel güvenlik ekipmanları (uygun eldivenler, laboratuvar önlüğü, güvenlik gözlükleri) kullanın ve testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın. Numunelerin işlenmekte olduğu alanlarda sigara içmeyin, bir şey yemeyin veya içmeyin.

Daha fazla ayrıntı için, [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com) adresindeki Güvenlik Veri Formlarına (SDS) başvurun.

Kit, bir inaktive rotavirüs kültürü bulunan bir pozitif kontrol içermektedir. Potansiyel olarak enfeksiyöz materyal olarak işlem görmeli ve tıpkı hasta numuneleri gibi ulusal güvenlik yönetmeliklerine uygun olarak kullanılmalıdır.

Yıkama tamponu koruyucu olarak % 0,1 timerosal içerir. Bu maddenin, cilt veya mukoza zarlarıyla temas etmesine izin verilmemelidir.

Kullanıldıktan sonra tüm reaktiflerin ve materyallerin uygun ve sorumlu bir şekilde bertaraf edilmelerini sağlayın. Bertaraf için, lütfen ulusal yönetmeliklere uyun.

## 8. Numuneleri toplama ve saklama

Gaita örnekleri, diyarenin ilk semptomlarının ortaya çıkmasından sonraki üç gün içinde olabildiğince erkenden alınmalıdır. Kullanılana kadar materyali 2-8 °C'de saklayın. Materyal bir testte üç gün içinde kullanılmayacaksa -20 °C'de veya daha soğukta saklanmasını öneririz. Numuneyi tekrar tekrar dondurmaktan ve çözmekten kaçının. Bir gaita örneği bir örnek seyreltme tamponunda 1:11 oranında seyreltikten sonra, üç gün içinde kullanılmak üzere 2 - 8 °C'de saklanabilir (Tab. 1).

**Tab. 1: Numune saklama**

Seyreltilmemiş gaita numunesi		Seyreltilmiş gaita numunesi
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 gün	> 3 gün	≤ 3 gün

Gaita örnekleri ve rektal smear'lar, koruyuculu nakil ortam maddesi, hayvan serası, metal iyonları, oksitleyici ajanlar veya deterjanlar içeren nakil kaplarında toplanmamalıdır, çünkü bunlar RIDASCREEN® Rotavirus Testiyle etkileşime girebilirler. Rektal smear'lar kullanılıyorsa, gaita materyali hacminin test için yeterli olduğundan (yaklaşık 100 mg) emin olun.

Temas izlemesi, asemptomatik taşıyıcıları belirleyebilmek amacıyla, klinik semptomlar göstermeyen temas kişilerinden gaita örneklerini test etmeyi içerir.

## 9. Test prosedürü

### 9.1 Genel bilgiler

Tüm reaktifler ve mikro-kuyucuk **Plate** kullanılmadan önce oda sıcaklığına (20 - 25 °C) getirilmelidir. Mikro-kuyucuk stripleri, oda sıcaklığına ulaşana kadar alüminyum torbadan çıkarılmamalıdır. Reaktifler kullanılmadan hemen önce iyice karıştırılmalıdır. Kullandıktan sonra, mikro-kuyucuk stripleri (mühürlü torbalara yerleştirilmiş) ve reaktifler yine 2 - 8 °C'de saklanmalıdır. Mikro-kuyucuk stripleri kullanıldıktan sonra tekrar kullanılmamalıdır. Reaktifler ve mikro-kuyucuk stripleri, ambalajları hasarlıysa veya flakonlar sızıntılıysa kullanılmamalıdır.

Çapraz kontaminasyonu önlemek için, örneklerin kit bileşenleriyle doğrudan temas etmesi önlenmelidir.

Test doğrudan güneş ışığında gerçekleştirilmemelidir. Buharlaştırma kayıplarını önlemek için mikro-kuyucuk plakasını örtmeyi veya plastik örtüyü üzerine yerleştirmeyi öneririz.

## 9.2 Yıkama tamponunu hazırlama

1 parça konsantre yıkama tamponunu **Wash buffer** 9 parça distile suyla karıştırın. Konsantrede mevcut olabilecek kristaller, 37 °C'de bir su banyosunda ısıtarak önceden çözülmelidir.

## 9.3 Numuneleri hazırlama

Etiketli bir test tüpünü 1 ml RIDASCREEN® örnek seyreltme tamponu **Diluent | 1** ile doldurun. İnce bir gaita (yaklaşık 100 µl) örneğini ikinci işaretin hemen üzerine aspire etmek için bir tek kullanımlık pipet (Artikel no. Z0001) kullanın ve bir süspansiyon oluşturmak için test tüpündeki tampona ekleyin. Bir katı gaita örneğiyle bir süspansiyon yapmak için, bir spatula veya tek kullanımlık özeyle eşit miktarda (yaklaşık 50 - 100 mg) ekleyin.

Gaita süspansiyonunu, tek kullanımlık bir pipetle içeri aspirasyon ve dışarı ejeksiyonla veya alternatif olarak bir Vorteks karıştırıcıda karıştırarak homojenize edin. Süspansiyonu, kaba gaita partiküllerinin çökmesi için kısa bir süre (10 dakika) bekletin ve bu berraklaşmış gaita süspansiyonu üst fazı, testte doğrudan kullanılabilir. Test prosedürü bir otomatik ELISA sisteminde gerçekleştirilirse, üst fazın partikülsüz olması gerekir. Bu durumda, örneğin 2.500 G'de 5 dakika boyunca santrifüje alınması önerilir.

**Not:** **Diluent | 1**'de seyreltilen gaita örnekleri, **Diluent | 1** kullanılmış olan tüm RIDASCREEN® ELISA'larda test edilebilirler.

## 9.4 İlk inkübasyon

Strip tutucuya yeterli sayıda kuyucuk ekledikten sonra, 100 µl pozitif **Control | +**, negatif **Control | -** veya gaita örneği süspansiyonunu kuyucuklara ekleyin. Daha sonra, 100 µl biyotin-konjuge antikor 1 **Conjugat | 1** ekleyin ve karıştırın (plakanın kenarına hafifçe vurarak); ardından, oda sıcaklığında (20 - 25 °C) 60 dakika boyunca inkübe edin.

## 9.5 Yıkama

Doğru sonuçlara ulaşmak için dikkatli yıkama önemlidir ve bu nedenle, talimatlara kesin olarak uyararak hareket edin. Kuyucuklardaki inkübe edilmiş madde, yerel yönetmeliklere uygun bertaraf için bir atık kabına boşaltılmalıdır. Bundan sonra, kalıntı nemi uzaklaştırmak için plakayı absorban kağıdın üzerine vurun. Ardından her seferinde 300 µl yıkama tamponunu **Wash buffer** kullanarak plakayı beş kez

yıkayın. Her yıkamadan sonra, absorban kağıdın halen kuru ve kullanılmamış olan bir bölümüne vurarak kuyucukların tamamen boşaldıklarından emin olun. Bir mikro-kuyucuk yıkayıcı veya tam otomatik ELISA kullanıyorsanız, makinenin doğru şekilde ayarlandığından emin olun; gerekirse üreticiden ayarları isteyin. R-Biopharm tarafından teslim edilen cihazlar zaten doğrulanmış ayarlarla ve iş protokolleriyle programlanmışlardır. Yıkama iğnelerini tıkamayı önlemek için, yalnızca partikül içermeyen gaita süspansiyonları dağıtılmalıdır (bkz. Madde 9.3., Numuneleri hazırlama). Ayrıca her yıkama adımı sırasında tüm sıvının aspire edildiğinden emin olun.

### 9.6 İkinci inkübasyon

Kuyucuklara 100 µl streptavidin poli-peroksidaz konjugatı **Conjugate | 2** doldurmak için bir pipet kullanın, ardından oda sıcaklığında (20 - 25 °C) 30 dakika boyunca inkübe edin.

### 9.7 Yıkama

Madde 9.5'te açıklandığı gibi yıkayın.

### 9.8 Üçüncü inkübasyon

Tüm kuyucukları 100 µl substratla **Substrate** doldurun. Ardından plakayı oda sıcaklığında (20 - 25 °C), karanlıkta 15 dakika boyunca inkübe edin. Daha sonra, reaksiyonu durdurmak için tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi **Stop** doldurun. Plakanın kenarına hafifçe vurarak dikkatle karıştırdıktan sonra, ekstinksiyonu 450 nm'de ölçün (opsiyonel: 450/620 nm).

**Not: Yüksek pozitiflikteki hasta örnekleri, substratın siyah renkli çökmesine neden olabilir.**

## 10. Kalite kontrol – Reaktif instabilitesi veya bozulması göstergesi

Kalite kontrol amacıyla, reaktiflerin stabil olduklarından ve testin doğru şekilde gerçekleştirildiğinden emin olmak için pozitif ve negatif kontroller, testin gerçekleştirildiği her sefer kullanılmalıdır.

Negatif kontrol için ekstinksiyon hızı (OD) 450 nm'de 0,2'den düşük (450/620 nm'de 0,160'tan düşük) ve pozitif kontrol için ölçülen değer 450 nm'de veya 450/620 nm'de 0,8'den büyükse test doğru şekilde gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol için 0,2'den (0,160) büyük bir değer, yıkamanın yetersiz olduğunu gösteriyor olabilir. Gerekli değerlerden sapma, tıpkı kuyucuklara doldurulmadan önce renksiz olan substratın bulanık veya mavi renkli olması gibi, reaktiflerin son kullanma tarihlerinin geçtiğini gösteriyor olabilir.

Gerekli değerlere ulaşılamıyorsa, test tekrarlanmadan önce aşağıdaki hususlar kontrol edilmelidir:

- Kullanılan reaktiflerin son kullanma tarihi
- Kullanılan ekipmanın fonksiyonelliği (örn. kalibrasyon)
- Doğru test prosedürü
- Kontaminasyon veya sızıntılar için kit bileşenlerinin gözle kontrolü; maviye dönen bir substrat solüsyonu kullanılmamalıdır.

Test tekrarlandıktan sonra koşullar yine karşılanmıyorsa, lütfen üreticiye veya yerel R-Biopharm distribütörünüze başvurun.

## 11. Değerlendirme ve yorumlama

### 11.1. Kesmeyi hesaplama

Kesmeyi hesaplamak için, negatif kontrol için ölçülen ekstinksiyona 0,15 ekstinksiyon birimi eklenir.

$$\text{Kesme} = \text{negatif kontrol için ekstinksiyon} + 0,15$$

### 11.2. Test sonuçları

Ekstinksiyon hızı, hesaplanan kesme değerinden % 10 daha yüksekse, numunenin değerlendirmesi pozitifdir.

Ekstinksiyon hızı, kesme değerinin % 10 altı ila % 10 üstü arasında değişiyorsa, numunenin değerlendirmesi marjinaldir. Yeni bir gaita örneğiyle tekrarlanan inceleme yine gri bölgeye düşüyorsa, örneğin değerlendirmesi negatifdir.

Ekstinksiyonları, hesaplanan kesme değerinden % 10 daha yüksek numunelerin negatif görülmeleri gerekir.

## 12. Yöntemin sınırlamaları

RIDASCREEEN<sup>®</sup> Rotavirus Test, gaita örneklerinde rotavirüslerin antijenlerini belirler. Belirlenen ekstinksiyon düzeyini klinik semptomların ortaya çıkışıyla veya şiddetiyle ilişkilendirmek olanaklı değildir. Elde edilen sonuçlar, her zaman klinik belirtiler ve semptomlarla birlikte yorumlanmalıdır.

Bir pozitif sonuç, başka enfeksiyöz patojenlerin varlığı olasılığını ortadan kaldırmaz.

Bir negatif sonuç, *rotavirus* enfeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmaz. Böyle bir sonuç, virüsün arada ekskrete edilmiş olmasından veya örnekteki antijen miktarının çok küçük olmasından kaynaklanıyor olabilir. Hastanın geğmişi bir *rotavirus* enfeksiyonu kuşkusunu destekliyorsa, inceleme başka bir gaita örneğiyle tekrarlanmalıdır.



Bir sınır sonuç, virüslerin gaita örneğinde homojen olmayan dağılımlarından kaynaklanıyor olabilir. Bu durumda, inceleme ya aynı örnekten ikinci bir süspansiyonla tekrarlanmalı veya başka bir gaita örneği istenmelidir.

### 13. Test performansı

#### 13.1 Test kalitesi

RIDASCREEN® Rotavirus, üç ticari olarak mevcut rotavirüs ELISA'yla doğrulanmıştır. Kullanılmış olan örnek topluluğu, bir rutin laboratuvarında aynı gün alınmış yeni örneklerden ve karşılaştırma çalışmasında kullanılmak üzere önceden -20 °C'de dondurulmuş olan hazır örneklerden oluşmaktaydı. Tek bir homojen başlangıç düzeyi süspansiyonu her bir ELISA'yla üreticilerinin talimatlarına göre test edilmiştir. Bir örnek, üç referans testin sonuçlarından ikisi uyumlu olduğunda pozitif veya negatif olarak kabul edilmiştir. O çalışmanın sonuçları Tablo 2'de özetlenmektedir.

**Tab. 2:** RIDASCREEN® Rotavirus ELISA ve diğer üç ticari ELISA arasındaki korelasyon

RIDASCREEN® Rotavirus	Rakip-ELISA		Toplam
	+	-	
+	22	1*	23
-	1*	112	113
Toplam	23	113	136

\* Her iki örnek Rotavirus PCR Test'te negatifti.

Hassasiyet: % 95,7      Özgüllük: % 99,1

#### 13.2 Çapraz reaktivite

Bağırsak yollarından çeşitli patojenik mikro-organizmalar RIDASCREEN® Rotavirus ELISA ile incelenmiş ve hiçbir çapraz reaktivite göstermemişlerdir.

Bu çalışmalar, ml başına  $10^6$  ila  $10^9$  organizma konsantrasyonlarına sahip oldukları gösterilen bakteriyel süspansiyonlarla yapılmıştır. Virüs kültürü üst fazları ve toksinlerin yanı sıra gaita örnekleri gereğince listelenmiştir. O çalışmanın sonuçları Tablo 3'te özetlenmektedir.

**Tab. 3:** Patojenik mikro-organizmalarla çapraz reaktivite

Organizma	Köken	Kaynak	[OD 450 nm] ortalama değer
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Kültür	DSM 2403	0,078
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	Kültür	DSM 30020	0,068
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	Kültür	DSM 30016	0,078
<i>Citrobacter sp.</i>	Kültür	DSM 30047	0,055
<i>Citrobacter freundii</i>	Kültür	DSM 30039	0,090
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kültür	DSM 30054	0,072
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kültür	DSM 2570	0,066
<i>Enterococcus faecium</i>	Kültür	DSM 20477	0,095
<i>E. coli</i>	Kültür	LMU Munich	0,069
<i>E. coli</i>	Kültür	LMU Munich	0,082
<i>E. coli</i>	Kültür	LMU Munich	0,083
<i>E. hermannii</i>	Kültür	DSM 4560	0,054
<i>Lactococcus lactis</i>	Kültür	DSM 20481	0,073
<i>Listeria innocua</i>	Kültür	DSM 20649	0,078
<i>Proteus mirabilis</i>	Kültür	DSM 788	0,053
<i>Proteus mirabilis</i>	Kültür	DSM 4479	0,065
<i>Proteus vulgaris</i>	Kültür	DSM 30119	0,053
<i>Providencia stuartii</i>	Kültür	DSM 6676	0,080
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kültür	DSM 939	0,065
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Kültür	DSM 4358	0,061
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Kültür	DSM 50124	0,082
<i>Pseudomonas putida</i>	Kültür	DSM 291	0,058
<i>Salmonella agona</i>	Kültür	LMU Munich	0,097
<i>Salmonella choleraesuis</i>	Kültür	DSM 4224	0,088
<i>Salmonella infantis</i>	Kültür	LMU Munich	0,059
<i>Salmonella ohio</i>	Kültür	LMU Munich	0,061
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kültür	DSM 554	0,052
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kültür	DSM 4487	0,050
<i>Shigella flexneri</i>	Kültür	DSM 4782	0,063
<i>Shigella sonnei</i>	Kültür	DSM 5570	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kültür	DSM 20372	0,063
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Kültür	DSM 2134	0,078
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Kültür	DSM 20662	0,079

<i>Streptococcus uberis</i>	Kültür	DSM 20569	0,072
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Kültür	LMU Munich	0,097
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Kültür	LMU Munich	0,074
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Kültür	LMU Munich	0,084
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Kültür	LMU Munich	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Kültür	LMU Munich	0,086
<i>Candida albicans</i>	Kültür	ATCC 10231	0,082
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kültür	DSM 9898	0,065
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kültür	DSM 4688	0,054
<i>Campylobacter coli</i>	Kültür	DSM 4689	0,073
<i>Campylobacter fetus</i>	Kültür	DSM 5361	0,064
<i>Helicobacter pylori</i>	Kültür	DSM 4867	0,053
<i>Morganella morganii</i>	Kültür	DSM 6675	0,053
<i>Astrovirus</i>	Kültür üst fazı	Micromun	0,055
<i>Astrovirus</i>	Gaita	TU Dresden	0,080
<i>Adenovirus</i>	Kültür üst fazı	Micromun	0,065
<i>Adenovirus</i>	Gaita	TU Dresden	0,061
<i>H. pylori</i>	İnaktive <i>H. pylori</i> lizatı	Kit kontrol RIDASCREEN® <i>H. pylori</i> FemtoLab	0,082
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Toksoid	Kit kontrol <i>C.</i> <i>perfringens</i> Enterotoxin A	0,058
<i>Shigatoxin</i> STX1	Toksoid	Toxin Technology	0,064
<i>Shigatoxin</i> STX2	Toksoid	Toxin Technology	0,073
<i>C. sordellii</i>	Kültür	tgcBiomics	0,060
<i>C. difficile</i>	Kültür	VPI 1640	0,060
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kültür	Waterborne Inc.	0,052
<i>Campylobacter</i>	Gaita	Rutin lab	0,042
<i>Giardia lamblia</i>	Gaita	TI Berlin	0,037
<i>Entamoeba histolytica</i>	Gaita	TI Berlin	0,049
<i>Salmonella enteritidis</i>	Gaita	Rutin lab	0,066
<i>Sapovirus</i>	Gaita	TU Dresden	0,062

### 13.3 Kesinlik

RIDASCREEEN® Rotavirus ELISA yeniden üretilebilirliği, zayıftan yüksek pozitifliğe kadar tüm ölçüm aralığını temsil eden altı referansla test edilmiştir.

Tahlil içi yeniden üretilebilirliği belirlemek için, bu referansların 40 replikatı tahlil edilmiştir. Kit 1, referans standardı 1'le (RS 1) ve Kitler 2 ve 3 referans standardı 2'yle (RS 2) tahlil edilmiştir. Ortalama değerler ve varyasyon katsayıları (VC) üç lotun tümü için belirlenmiştir.

Tahlil arası yeniden üretilebilirlik için, on farklı çalışma gününden referanslar, günde iki çalışma olmak üzere ikili olarak tahlil edilmiştir. Ölçümler, üç lotta üç teknisyen tarafından belirlenmiştir.

Lot arası yeniden üretilebilirlik, iki lot (Lot 2 ve 3) için belirlenmiştir. O çalışmanın sonuçları Tablo 4'te gösterilmektedir.

**Tab. 4:** RIDASCREEEN® Rotavirus ELISA yeniden üretilebilirliği ve kesinliği

Referans	Ortalama değer / CV(%)	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası
		Kit Lotu 1 (RC 1)	Kit Lotu 2 (RC 2)	Kit Lotu 3 (RC 2)	Kit Lotu 1 (RC 1)	Kit Lotu 2 (RC 2)	Kit Lotu 3 (RC 2)	Kit Lotu 2-3
1	MV	2,279	2,116	2,300	2,206	1,902	2,035	1,968
	CV (%)	% 4,82	% 9,38	% 6,86	% 11,78	% 20,30	% 18,33	% 19,42
2	MV	1,318	1,311	1,535	1,642	1,273	1,389	1,331
	CV (%)	% 8,87	% 10,67	% 5,00	% 14,82	% 25,42	% 21,61	% 23,70
3	MV	1,265	1,184	1,517	1,483	1,117	1,219	1,168
	CV (%)	% 9,82	% 13,36	% 5,25	% 15,00	% 22,68	% 21,43	% 22,01
4	MV	0,837	0,660	0,853	1,116	0,710	0,781	0,745
	CV (%)	% 10,26	% 15,12	% 4,53	% 17,26	% 25,81	% 24,37	% 25,36
5	MV	0,658	0,544	0,670	0,738	0,548	0,607	0,578
	CV (%)	% 9,94	% 14,99	% 4,85	% 17,78	% 25,43	% 26,14	% 26,21
6	MV	0,373	0,298	0,509	0,532	0,386	0,435	0,411
	CV (%)	% 9,85	% 15,38	% 7,43	% 17,94	% 28,90	% 27,73	% 28,87

### 13.4 Analitik Hassasiyet

RIDASCREEEN® Rotavirus ELISA için saptama sınırı, immünoelektron mikroskopisiyle (IEM) nicellenmiş bir gaita örneğinin seri olarak seyreltilmesiyle belirlenmiştir.

Ölçümler,  $10,6 \times 10^7$  partikül/ml şeklindeki bir virüs titrasyonuna dayanarak üçlü olarak alınmıştır. Saptama sınırı, gaita örneğinin  $6,63 \times 10^3$  virüs partikül/ml'si

şeklinde tanımlanmıştır. Titrasyon serisinin sonuçları Tablo 5'te gösterilmektedir. ELISA'daki pozitif OD değerine, intakt virüs partiküllerinin yanı sıra IEM'de sayılmayan virüs parçacıklarının da neden olduğu unutulmamalıdır.

**Tab. 5:** RIDASCREEN® Rotavirus ELISA'nın analitik hassasiyetini belirleme

IEM	RIDASCREEN® Rotavirus	
	Ortalama değer [OD 450]	Sonuçlar
Virüs partikülleri / ml		
5,3 x 10 <sup>6</sup>	4,036	pozitif
5,3 x 10 <sup>5</sup>	4,043	pozitif
2,65 x 10 <sup>5</sup>	4,051	pozitif
1,325 x 10 <sup>5</sup>	4,060	pozitif
0,663 x 10 <sup>5</sup>	3,140	pozitif
5,3 x 10 <sup>4</sup>	2,022	pozitif
2,65 x 10 <sup>4</sup>	0,788	pozitif
1,325 x 10 <sup>4</sup>	0,451	pozitif
0,663 x 10 <sup>4</sup>	0,240	pozitif
0,332 x 10 <sup>4</sup>	0,124	negatif
0,165 x 10 <sup>4</sup>	0,049	negatif

### 13.5 Etkileşen maddeler

Aşağıdaki madde listesi, *rotavirus* pozitif ve *rotavirus* negatif gaita örnekleriyle belirtilen konsantrasyonlarda karıştırıldıklarında test sonuçları üzerinde hiçbir etki göstermemişlerdir:










Müsinler	% 5,0 ağırlık/ağırlık	Diklofenak	% 0,00263 hacim/ağırlık
İnsan kanı	% 5,0 hacim/ağırlık	Siklamat	% 5,0 hacim/ağırlık
Baryum sülfat	% 5,0 ağırlık/ağırlık	Stearik asit ve palmitik asit kombinasyonu	% 40 ağırlık/ağırlık (1:1)
Loperamid	% 5,0 ağırlık/ağırlık		
Pepto-Bismol	% 5,0 hacim/ağırlık	Metronidazol % 0,5 solüsyon	% 5,0 hacim/ağırlık

## 14. Sürüm geçmişi

Sürüm numarası	Bölüm ve adlandırma
2017-04-20	Önceki sürüm
2019-07-08	Genel revizyon 4. Sağlanan reaktifler 8. Numuneleri toplama ve saklama 9.2 Yıkama tamponunu hazırlama 9.5 Yıkama

## 15. Simgelerin açıklamaları

### Genel simgeler

	İn vitro tanı amaçlı kullanım için
	Kullanma talimatlarına bakın
	Lot numarası
	Son kullanma tarihi
	Saklama koşulu
	Artikel numarası
	Test sayısı
	Üretim tarihi
	Üretici firma

## Teste özel simgeler

Plate	Mikro-titrasyon plakası
Diluent   1	Örnek seyreltme tamponu
Wash buffer	Yıkama tamponu
Control   +	Pozitif kontrol
Control   -	Negatif kontrol
Conjugate   1	Konjugat 1
Conjugate   2	Konjugat 2
Substrate	Substrat
Stop	Durdurma reaktifi

## 16. Referanslar

1. Francki, R.I.B., Fauquet, C.M., Knudson, D.L., and Brown, F.: Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology Supplement 2. Springer Verlag, New York, pp 140-144 (1992)
2. Estes, M.K. and Cohen, J.: Rotavirus Gene Structure and Function. Microbiological Reviews 53: 410-419 (1989)
3. Bishop, R.F., Davidson, G. P., Holmes, I.H. and Ruck, B.J.: Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. Lancet 1, 149-151 (1974)
4. Kapikian, A.Z., Yolken, R.H., Greenberg, H.B., Wyatt, R.G., Kalica, A.R., Chanock, R. M. and Kim, H.W.: Gastroenteritis viruses. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections, 5th Ed., (1980) Lennette, E.H., Schmidt, N.J., Eds. Amer. Pub. Health Assoc., Washington, D.C., 927-996
5. Flewett, T.H. and Woode, G.N.: The Rotavirus. Arch. Virology 57, 1-23 (1978)
6. Steinhoff, M.C: Rotavirus: The first five years. J. Ped. 96, 611-622 (1980)
7. Blacklow, N.R. and Cukor, G.: Viral Gastroenteritis. New England Journal of Medicine 304, 397-406 (1981)
8. Wenman, W.M., Hinde, D., Feltham, S. and Gurwith, M.: Rotavirus Infection in Adults. Results of a Prospective Study. New England Journal of Medicine 301, 303-306 (1979)
9. Cubitt, W.D.: Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1, 33-38 (1982)
10. Marrie, T.J., Spencer, H.S., Faulkner, R.S., Ethier, J. and Young, C.H.: Rotavirus Infection in a Geriatric Population. Arch. Intern. Med. 142, 313-316 (1982)

11. Coulson, B.S. and Holmes, I.H.: An Improved Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Rotavirus in Faeces of Neonates. *J. Virol. Methods* 8, 165-179 (1984)
12. Hung, T., Wang, Ch., Fang, Z., Chou, Z., Chang, X., Liang, X., Chen, G., Yao, H., Chao, T., Ye, W., Den, S. and Chang, W.: Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. *Lancet*, 1139-1142 (1984)
13. Cukor, G., Perron, D.M., Hudson, R. and Blacklow, N.R.: Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. *J. Clin. Microbiol.* 19, 888-892 (1984)
14. Herrmann, J.E., Blacklow, N.R., Perron, D.M., Cukor, G., Krause, P.J., Hyams, J.S., Bar-rett, H.J. and Ogra, P.L.: Enzyme immunoassay with Monoclonal Antibody Enzyme Immunoassay for Detection of Rotavirus in Stool Specimens. *J. Infect. Dis.* 152, 830-832 (1985)
15. Yolken, R.H.: Enzyme Immunoassays for the Detection of Infectious Antigens in Body Fluids: Current Limitations and Future Prospects. *Rev. Infect. Dis.* 4, 35-68 (1982)
16. Eing, B.R. *et al*: Evaluation of Two Enzyme Immunoassays for Detection of Human *Rota-viruses* in *Fecal Specimens*. *J. Clin. Microbiology* 12/2001 p. 4532-4534