

RIDASCREEN[®] Astrovirus

Art. No.: C1301



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Astrovirus ist ein Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis von *Astroviren* in humanen Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Astroviren wurden erstmals 1975 durch Appleton und Higgins beschrieben und erhielten danach aufgrund ihres sternförmigen Aussehens von Madeley und Cosgrove, die in Stuhlproben von Kindern mit Durchfall diese kleinen runden Viren elektronenmikroskopisch sichtbar machten, ihren Namen. Sie gehören neben Caliciviren und einigen anderen zu den sogenannten Small Round Structured Viruses (SRSVs), die sich durch eine auffallend strukturierte Oberfläche von der Gruppe der Small Round Viruses (SRV), die eine glatte unstrukturierte Oberfläche haben, unterscheiden. Zu den SRV gehören u.a. Parvoviren und Picornaviren.

Die epidemiologische Bedeutung der durch Astrovirus bedingten Gastroenteritiden war in den Jahren, in denen nur die Elektronenmikroskopie zum Nachweis eingesetzt wurde, sehr unklar und die Häufigkeit der Astrovirus-bedingten Durchfälle und Brechdurchfälle wurde massiv unterschätzt. Dies lag einerseits an der relativen Unempfindlichkeit der EM, aber auch an der nicht immer eindeutig möglichen Zuordnung der SRSV-Partikel. Die geringe Inzidenz von 1 % deckte sich nicht mit den seroepidemiologisch erhobenen Daten, wonach bis zu 70 % der älteren Kinder und jungen Erwachsenen spezifische Anti-Astrovirus-Antikörper besaßen.

Erst durch neuere Verfahren, wie Enzymimmunoassays, die 10 bis 100fach empfindlicher als die EM sind, und hochempfindliche PCR-Methoden mit Nachweisgrenzen bis zu 10^2 Partikel pro ml Stuhlprobe, wurde die Bedeutung und Beteiligung von Astrovirus zunehmend wichtiger in der Differentialdiagnose von Durchfallerkrankungen. Die heutige Astrovirus-Inzidenz bei akuten Durchfällen liegt zwischen 2,5 und 10 % und somit in einer für Adenoviren (Typ 40/41) bekannten Häufung. Damit stehen sie nach Noroviren und Rotaviren an dritter Stelle der Ursachen nicht bakteriell bedingter Gastroenteritiden.

Von den heute bekannten 8 Serotypen sind insbesondere die Serotypen 1-5 relevant. Astrovirus-bedingte Gastroenteritiden kommen bei allen Altersgruppen vor, gehäuft jedoch im Kindesalter und bei älteren Menschen. Ausbrüche in Kindergärten, Schulen, Krankenhäusern und Altersheimen sind am häufigsten beschrieben, aber auch beim Militär und Reisegruppen treten Astrovirus-bedingte Gastroenteritiden spontan auf. Die Infektiosität entspricht der von Rotaviren. Die Infektion erfolgt über kontaminierte Lebensmittel, insbesondere Austern, über Wasser und auf dem fäkal-oralen Übertragungsweg.

Der RIDASCREEN® Astrovirus ELISA erlaubt durch den Einsatz hochspezifischer Antikörper den sicheren Nachweis von Astrovirus-Antigenen in Stuhlproben.

3. Testprinzip

Im RIDASCREEN® Astrovirus ELISA werden spezifische Antikörper in einem Sandwich-Verfahren eingesetzt. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte sind spezifische

Antikörper gegen alle bekannten Astrovirus-Serotypen gebunden. Eine Suspension der zu untersuchenden Stuhlprobe sowie die Kontrollen werden zusammen mit biotinylierten spezifischen Anti-Astrovirus-Antikörpern (Konjugat 1) bei Raumtemperatur (20-25 °C) zur Inkubation in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach einem Waschschrift wird Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat (Konjugat 2) dazu gegeben und erneut bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubiert. Bei Anwesenheit von Astroviren in der Stuhlprobe bildet sich ein Sandwich-Komplex aus immobilisierten Antikörpern, den Astrovirus-Antigenen und den mit dem Biotin-Streptavidin-Peroxidase-Komplex konjugierten Antikörpern. Nicht gebundenes Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat wird in einem weiteren Waschschrift entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration der in der Probe vorhandenen Astroviren.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen

Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte, 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit spezifischen Antikörpern gegen Astroviren
Diluent 1	100 ml	Probenverdünnungspuffer, Protein-gepufferte NaCl-Lösung; gebrauchsfertig; blau gefärbt
Wash	100 ml	Waschpuffer, Phosphat-gepufferte NaCl-Lösung (10fach konz.); enthält 0,1 % Thimerosal
Control +	2 ml	Positivkontrolle, inaktivierte Astroviruskultur; gebrauchsfertig
Control -	2 ml	Negativkontrolle (Probenverdünnungspuffer); gebrauchsfertig
Conjugate 1	13 ml	Biotin-konjugierte spezifische Antikörper gegen Astroviren in stabilisierter Proteinlösung; gebrauchsfertig; gelb gefärbt
Conjugate 2	13 ml	Streptavidin-Poly-Peroxidase Konjugat in stabilisierter Proteinlösung; gebrauchsfertig; orange gefärbt
Substrate	13 ml	Wasserstoffperoxid/TMB; gebrauchsfertig
Stop	12 ml	Stopp-Reagenz; 1 N Schwefelsäure; gebrauchsfertig

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Alle Reagenzien sind bei 2-8 °C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2-8 °C 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfalldatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Alu-Beutel ist mit einer Schere so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind im verschlossenen Alu-Beutel sofort wieder bei 2-8 °C zu lagern.

Eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat ist zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Blaufärbung durch Autooxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Blaufärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- Probenröhrchen
- Einwegpipetten (Art. Nr.: Z0001)
- Vortex Mixer (optional, siehe 9.3.)
- Mikropipette für 50 - 100 µl und 1 ml Volumina
- Messzylinder (1000 ml)
- Stoppuhr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette (300 µl)
- Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm, Referenzfilter 620-650 nm)
- Filterpapier (Labortücher)
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Hypochloritlösung

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Material Safety Data Sheets (MSDS): www.r-biopharm.com.

Die im Kit befindliche Positivkontrolle enthält inaktivierte Astroviruskultur. Sie sollte, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös gemäß den nationalen Sicherheitsbestimmungen behandelt werden.

Der Waschpuffer enthält als Konservierungsmittel 0,1 % Thimerosal. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Das Untersuchungsmaterial ist bis zur Verarbeitung bei 2-8 °C zu lagern. Kann das Material nicht innerhalb von 3 Tagen im Test eingesetzt werden, wird eine Lagerung bei -20 °C oder kälter empfohlen. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden.

Stuhlproben oder Rektalabstriche sollten nicht in Transportbehältern gesammelt werden, die Transportmedien mit Konservierungsstoffen, tierischen Seren, Metall-Ionen, oxidierenden Agenzien oder Detergenzien enthalten, da Interferenzen mit dem RIDASCREEN® Astrovirus-Test auftreten können.

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 100 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

Bei Umgebungsuntersuchungen sollten auch Stuhlproben von klinisch unauffälligen Kontaktpersonen getestet werden, um asymptomatische Träger zu identifizieren.

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte **Plate** auf Raumtemperatur (20-25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch sind die Mikrotiterstreifen (im verschlossenen Beutel) und die Reagenzien wieder bei 2-8 °C zu lagern. Einmal benutzte Mikrotiterstreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Ein direkter Kontakt von Proben mit den Kitkomponenten ist zur Vermeidung von Kreuzkontamination zu vermeiden.

Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung sollte vermieden werden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten abzudecken oder abzukleben.

9.2. Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrates **Wash** wird mit 9 Teilen destilliertem Wasser gemischt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen.

9.3. Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml RIDASCREEN® Probenverdünnungspuffer

Diluent | 1 vorgelegt. Flüssiger Stuhl wird in eine Einwegpipette (Art. Nr. Z0001) bis kurz oberhalb der zweiten Markierung aufgesaugt (ca. 100 µl) und im vorgelegten Puffer suspendiert. Bei festem Stuhl wird eine äquivalente Menge Stuhl (ca. 50-100 mg) mit einem Spatel oder einer Einweg-Impföse entnommen und suspendiert.

Das Homogenisieren der Stuhlsuspension erfolgt entweder durch Aufsaugen und Ausstoßen mit der Einwegpipette oder alternativ durch Mischen auf einem Vortexmixer. Nach kurzem Stehenlassen (10 min) zur Sedimentation grober Stuhlpartikel kann der auf diese Weise geklärte Überstand der Stuhlsuspension direkt im Test eingesetzt werden. Erfolgt die Testdurchführung in einem ELISA-Automaten muss dieser Überstand partikelfrei sein. In diesem Fall empfiehlt sich eine Zentrifugation bei 2500 g für 5 Minuten.

Hinweis :

Die im **Diluent | 1** verdünnten Stuhlproben können auch in allen anderen RIDASCREEN® ELISA eingesetzt werden die ebenfalls das **Diluent | 1** verwenden.

9.4. Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen erfolgt die Zugabe von 100 µl der Positivkontrolle **Control | +**, der Negativkontrolle **Control | -** oder der Stuhlprobensuspension in die Vertiefungen. Anschließend werden 100 µl des Biotin-konjugierten Antikörpers **Conjugate | 1** zugegeben und nach Durchmischung (leichtes Tippen an den Plattenrand) für 60 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubiert.

9.5. Waschen

Sorgfältiges Waschen ist wichtig zur Erzielung korrekter Ergebnisse und sollte daher strikt nach Anleitung erfolgen. Das Inkubat in den Kavitäten sollte zunächst in einen Abfallbehälter entleert und gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgt werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

Bei der Verwendung von Waschautomaten oder ELISA-Vollautomaten ist die korrekte Einstellung des Gerätes zu beachten bzw. beim Hersteller zu erfragen. Geräte, die R-Biopharm liefert, sind bereits mit validierten Einstellungen und Arbeitsprotokollen programmiert. Um Verstopfungen von Waschnadeln zu vermeiden sollten gemäß der Probenvorbereitung (Pkt. 9.3.) nur partikelfreie Stuhlsuspensionen eingesetzt werden. Bei den Waschschritten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden.

9.6. Zweite Inkubation

100 µl des Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugates **Conjugate | 2** werden in die Kavitäten pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubiert.

9.7. Waschen

Waschen gemäß Pkt. 9.5.

9.8. Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat **Substrate** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 15 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) im Dunkeln inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz **Stop** in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion bei 450 nm gemessen (optional: 450/620 nm). Der Abgleich des Nullwertes sollte gegen Luft - also ohne Mikrotiterplatte - erfolgen.

Hinweis:

Hoch positive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Substrates verursachen.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle sind bei jeder Testdurchführung Positiv- und Negativkontrolle mitzuführen, um Reagenzien-Stabilität und korrekte Testdurchführung sicherzustellen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Extinktionswert (OD) der Negativkontrolle bei 450 nm kleiner 0,2 (kleiner 0,160 bei 450/620 nm) und der gemessene Wert der Positivkontrolle bei 450 nm oder bei 450/620 nm größer 0,8 ist. Ist der Wert der Negativkontrolle größer 0,2 (0,160) kann dies ein Zeichen für ungenügendes Waschen sein. Eine Abweichung von den geforderten Werten kann ebenso wie eine Trübung oder Blaufärbung des farblosen Substrates vor Zugabe in die Kavitäten ein Hinweis auf Reagenzienverfall sein.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind bei Wiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

11. Auswertung und Interpretation

11.1. Berechnung des Grenzwertes

Zur Festlegung des Grenzwertes werden zu der gemessenen Extinktion der Negativkontrolle 0,15 Extinktionseinheiten hinzuaddiert.

$$\text{Cut-off} = \text{Extinktionswert der Negativkontrolle} + 0,15$$

11.2. Testergebnis

Als **positiv** werden solche Proben beurteilt, deren Extinktionswert mehr als 10 % über dem errechneten Grenzwert liegt.

Als **grenzwertig** und zu wiederholen werden solche Proben bezeichnet, deren Extinktionswert im Bereich von 10 % oberhalb und unterhalb des Grenzwertes liegt. Fällt eine Wiederholungsuntersuchung mit einer frischen Stuhlprobe wieder in den Graubereich, so ist die Probe als negativ zu beurteilen.

Proben, die mehr als 10 % unter dem errechneten Grenzwert liegen, sind als **negativ** zu bewerten.

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Astrovirus Test weist Antigen von Astroviren in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe eines ermittelten Extinktionswertes und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. **Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.**

Ein **positives** Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger nicht aus.

Ein **negatives** Ergebnis schließt eine mögliche Astrovirus-Infektion nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung des Virus oder zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit Astroviren, sollte eine weitere Stuhlprobe untersucht werden.

Ein **grenzwertiges** Ergebnis kann durch eine inhomogene Verteilung des Virus in der Stuhlprobe verursacht werden. Deshalb sollte in einem solchen Fall eine zweite Suspension aus der gleichen Probe untersucht werden oder eine weitere Stuhlprobe zur Untersuchung angefordert werden.

13. Leistungsmerkmale

13.1. Testqualität

In einer Validierungsstudie mit dem RIDASCREEN® Astrovirus ELISA wurden retrospektiv 92 Stuhlproben untersucht. Diese Proben wurden homogenisiert und vergleichend im RIDASCREEN® Astrovirus ELISA und einem weiteren kommerziellen ELISA untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab. 1: Korrelation des RIDASCREEN® Astrovirus ELISA zu einem kommerziellen ELISA

		ELISA	
		pos	neg
RIDASCREEN® Astrovirus	pos	31	0
	neg	0	61

Positive Übereinstimmung: 100 %

Negative Übereinstimmung: 100 %

13.2. Kreuzreaktivität

Verschiedene pathogene Keime des Intestinaltraktes wurden mit dem RIDASCREEN® Astrovirus ELISA untersucht und zeigten keine Kreuzreaktivität. Durchgeführt wurden die Untersuchungen mit Bakteriensuspensionen, die eine Konzentration von 10^6 bis 10^9 Organismen pro ml aufwiesen. Viruskulturüberstände sind entsprechend deklariert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tab. 2: Kreuzreaktionen mit pathogenen Mikroorganismen

Testkeim	Herkunft	[OD450/620] Mittelwert
Adenovirus	Zellkulturüberstand	0,032
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Kultur	0,023
<i>Bacillus cereus</i>	Kultur	0,054
<i>Bacteroides fragilis</i>	Kultur	0,034
<i>Campylobacter coli</i>	Kultur	0,039
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultur	0,031
<i>Candida albicans</i>	Kultur	0,049
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultur	0,028
<i>Clostridium difficile</i>	Kultur	0,032
<i>Clostridium perfringens</i>	Kultur	0,031
<i>Clostridium sordellii</i>	Kultur	0,033
<i>Cryptosporidium muris</i>	Kultur	0,025
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultur	0,026
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Kultur	0,035
<i>E. coli</i> (O6)	Kultur	0,030
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Kultur	0,039
<i>Entamoeba histolytica</i>	Kultur	0,045
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kultur	0,028
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultur	0,033
<i>Giardia lamblia</i>	Kultur	0,032
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Kultur	0,035
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultur	0,035
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultur	0,035
Rotavirus	Zellkulturüberstand	0,029
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultur	0,030
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultur	0,033
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kultur	0,022

<i>Shigella flexneri</i>	Kultur	0,024
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur	0,054
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur	0,035
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Kultur	0,030
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kultur	0,031

13.3. Präzision

Die Reproduzierbarkeit des RIDASCREEN® Astrovirus ELISA wurde mit sechs Referenzen, die den gesamten Messbereich von negativ bis hoch positiv abdecken, durchgeführt. Zur Bestimmung der Intra-Assay Reproduzierbarkeit wurden 40 Replikate dieser Referenzen gemessen. Die Mittelwerte und die Variationskoeffizienten (VK) wurden für 3 Lots ermittelt. Für die Inter-Assay Reproduzierbarkeit wurden die Referenzen in insgesamt 20 Läufen an verschiedenen Arbeitstagen in Duplikaten gemessen. Die Messungen wurden mit 3 Lots und von 3 Technikern durchgeführt. Die Inter-Lot Reproduzierbarkeit wurde über alle 3 Lots ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tab. 3: Ergebnisse der Reproduzierbarkeit/Präzision des RIDASCREEN® Astrovirus ELISA

Referenz Mittelwert / VK		Intra-Assay			Inter-Assay			Inter-Lot
		Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3
1	MW	2,447	2,146	1,694	1,682	1,655	1,808	1,715
	VK (%)	4,74 %	6,62 %	4,25 %	10,55 %	9,38 %	9,11 %	10,62 %
2	MW	1,879	1,596	1,285	1,254	1,223	1,350	1,275
	VK (%)	5,75 %	6,71 %	5,99 %	8,62 %	10,50 %	9,64 %	10,76 %
3	MW	1,094	0,884	0,776	0,738	0,708	0,798	0,748
	VK (%)	6,40 %	7,04 %	8,21 %	12,80 %	11,19 %	12,75 %	13,56 %
4	MW	0,746	0,602	0,523	0,560	0,528	0,589	0,559
	VK (%)	5,89 %	7,79 %	8,89 %	14,83 %	14,84 %	15,45 %	15,69 %
5	MW	0,370	0,281	0,356	0,275	0,252	0,279	0,269
	VK (%)	15,97 %	12,41 %	15,12 %	12,59 %	15,04 %	13,81 %	14,59 %
6	MW	0,040	0,018	0,065	0,033	0,022	0,020	0,025
	VK (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

13.4. Analytische Sensitivität

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des RIDASCREEN® Astrovirus ELISA wurde der LoB (Limit of Blank) mit 90 Messungen von negativen Proben bestimmt. Der LoD (Limit of De-

tection) wurde anschließend mit 30 Messungen eines Astrovirus-Zelllysats analysiert. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4: Ergebnisse der analytischen Sensitivität des RIDASCREEN® Astrovirus ELISA

	MW [OD450/620]	ng/ml
LoB	0,027	-
LoD	-	8,5

13.5. Interferierende Substanzen

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen zeigten keinen Effekt auf die Testergebnisse, wenn sie in *Astrovirus*-positive und *Astrovirus*-negative Stuhlproben in den angegebenen Konzentrationen eingemischt wurden: Bariumsulfat (18,5 % w/w), Loperamid (0,02 % w/w), Cyclamat/Saccharin (1,3 % v/w), Humanblut (5,0 % v/w), Metronidazol (3,0 % v/w), Diclofenac (0,1 % v/w).

Pepto-Bismol, Mucine und Stearin-/Palmitinsäure können zu einer Verringerung der Signalstärke führen.

Anhang

Testspezifische Symbole :

Plate	Mikrotiterplatte
Diluent 1	Probenverdünnungspuffer
Wash	Waschpuffer
Control +	Positivkontrolle
Control -	Negativkontrolle
Conjugate 1	Konjugat 1
Conjugate 2	Konjugat 2
Substrate	Substrat
Stop	Stopp-Reagenz

Literatur

1. Appleton, H., Higgins, P.G.: Viruses and gastroenteritis in infants (letter). *Lancet* i 1297 (1975)
2. Madeley, C.R., Cosgrove, B.P.: 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* ii 451-452 (1975)
3. Cubitt, W.D.: Historical background and classification of caliciviruses and astroviruses. *Arch. Virol.* [Suppl.] 12, 225-235 (1996)
4. Glass, R.I. et. al.: The changing epidemiology of astrovirus-associated gastroenteritis: a review – *Arch. Virol.* [Suppl.] 12, 287-300 (1996)
5. Carter, M.J., Willcocks, M.M.: The molecular biology of astroviruses. *Arch. Virol.* [Suppl.] 12, 277-285 (1996)
6. Abad, F.X. et. al.: Astrovirus survival in drinking water. *Appl. Environmental Microbiol.* Vol. 63 No. 8, 3119-3122 (1997)
7. Belliot, G. et.al.: Outbreak of gastroenteritis in military recruits associated with serotyp 3 astrovirus infection. *J. Med. Virol.* 51, 101,106 (1997)
8. Gaggero, A. et. al.: Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.* 36 No. 12, 3691-3693 (1998)
9. Pang, X.L., Vesikari, T.: Human astrovirus-associated gastroenteritis in children under 2 years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Acta paediatr* 88, 532-536 (1999)
10. Bon, F. et. al.: Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J. Clin. Microbiol.* 37 No. 9, 3055-3058 (1999)