

RIDASCREEN[®] Astrovirus

Art. n°. C1301



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

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



1. Área de aplicación

Para el diagnóstico *in vitro*. El test RIDASCREEN® Astrovirus es un enzimoimmunoensayo para la identificación cualitativa de antígenos de Astrovirus en muestras de heces.

2. Resumen y explicación del test

Los **Astrovirus** fueron descritos por primera vez en 1975 por Appleton y Higgins y recibieron después de Madeley y Cosgrove el nombre debido a su morfología estrellada descubierta por ellos al analizar por microscopía electrónica estos pequeños virus redondeados en muestras de heces de niños con diarrea. Pertenecen, junto a los calicivirus y algunos otros, a los denominados virus pequeños, redondos y estructurados (SRSV, por sus siglas en inglés), que se diferencian del grupo de los virus pequeños y redondos (SRV) por la llamativa estructura de su superficie, en contraste con los SRV que poseen una superficie plana sin estructura definida. A los virus SRV pertenecen, entre otros, los Parvovirus y los Picornavirus.

La importancia epidemiológica de las gastroenteritis provocadas por Astrovirus no estaba aclarada en los años en que solo se utilizaba la microscopía electrónica para las investigaciones, y se subestimaba en gran medida la incidencia de las diarreas y los vómitos con diarreas ocasionadas por Astrovirus. Esto tenía su base, por un lado, en la relativa insensibilidad de la microscopía electrónica, pero también en la asignación no siempre inequívoca de las partículas de los SRV. La baja incidencia de 1% no era compatible con los datos seroepidemiológicos recolectados, según los cuales hasta el 70% de los niños mayores y adultos jóvenes poseían antígenos específicos anti-Astrovirus.

Solo con nuevas técnicas de análisis, como los enzimoimmunoensayos, que poseen una sensibilidad entre 10 y 100 veces superior a la microscopía electrónica, así como con los métodos PCR altamente sensibles con umbrales de detección de hasta 10^2 partículas por ml de muestra de heces, fue que se le concedió más importancia a la participación de los Astrovirus en los diagnósticos diferenciales de las enfermedades diarreicas. La incidencia actual del Astrovirus en las diarreas agudas está entre 2,5 y 10%, y representa por tanto una frecuencia típica para el Adenovirus (tipo 40/41). De esta forma se sitúan los Norovirus y Rotavirus en el tercer lugar entre los causantes de las gastroenteritis no bacterianas.

De los 8 serotipos actualmente conocidos se destacan especialmente los serotipos 1-5. Las gastroenteritis provocadas por Astrovirus ocurren en personas de todos los grupos de edades, aunque son mucho más frecuentes en los niños y en las personas más viejas. Se han descrito con mayor frecuencia brotes en jardines infantiles, escuelas, hospitales y asilos de ancianos, pero también en reclutas y grupos de viajeros han aparecido de forma espontánea gastroenteritis por Astrovirus. La infectividad corresponde a la de los Rotavirus. La infección se lleva a cabo a través de alimentos contaminados, particularmente por las ostras, el agua y por la vía de transmisión fecal-oral.

El test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA permite la identificación segura de antígenos de Astrovirus en muestras de heces diluidas mediante la aplicación de anticuerpos altamente específicos.

3. Fundamento del test

En el test RIDASCREEN® Astrovirus se emplean anticuerpos específicos en un procedimiento sándwich. La superficie de la cavidad de la microplaca de titulación está recubierta con anticuerpos monoclonales contra todos los serotipos de Astrovirus conocidos.

Se pipetea en la cavidad de la microplaca a temperatura ambiente (20 – 25 °C) una suspensión de la muestra de heces a analizar, así como de los controles, junto con los anticuerpos monoclonales anti-Astrovirus biotinilados (conjugado 1) para llevar a cabo la incubación.

Después de un paso de lavado se adiciona un conjugado de poliestreptavidina con peroxidasa (conjugado 2) y se incuba nuevamente a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Si hay Astrovirus presente en la muestra de heces se forma un complejo sándwich entre los anticuerpos inmovilizados, los antígenos del Astrovirus y los anticuerpos conjugados del complejo biotina-estreptavidina-peroxidasa. La fracción no enlazada del conjugado de estreptavidina-peroxidasa se elimina en un paso posterior de lavado. Después de añadir el sustrato, si la muestra es positiva, la enzima enlazada transforma el color de la solución en las cavidades de la microplaca de incolora hacia el azul. Mediante la adición de reactivo de parada se lleva a cabo un cambio de color del azul al amarillo. El valor medido para la absorbancia es proporcional a la concentración de Astrovirus en la muestra.

4. Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 96 determinaciones

Plate	96 det.	Microplaca de titulación, 12 tiras de microtitulación (separables) en marco de soporte; recubiertas con anticuerpos monoclonales contra Astrovirus
Diluent 1	100 ml	Buffer de dilución de muestras, solución de NaCl tamponada con buffer de proteína; contiene Kathon CG al 0,1%; listo para el uso; teñido de azul
Wash	100 ml	Buffer de lavado, solución de NaCl tamponada con buffer de fosfato (conc.10 veces); contiene Timersal al 0,1%
Control +	2,0 ml	Antígenos recombinantes de Astrovirus, listos para el uso
Conjugate 1	13 ml	Anticuerpos conjugados con biotina contra Astrovirus en solución estabilizada de proteína; listo para el uso; teñida de amarillo
Conjugate 2	13 ml	Conjugado de poliestreptavidina-peroxidasa en solución estabilizada de proteína; teñido de anaranjado
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrógeno / TMB; listo para el uso
Stop	12 ml	Reactivo de parada, ácido sulfúrico 1 N, listo para el uso

5. Reactivos y su almacenamiento

Todos los reactivos se deben guardar entre 2 – 8 °C y pueden usarse hasta la fecha de vencimiento impresa en las etiquetas. El buffer de lavado diluido se puede conservar 4 semanas si se mantiene entre 2 – 8 °C. La contaminación microbiana se debe evitar. Después de la fecha de vencimiento no se asumen garantías de calidad.

La bolsa de aluminio se debe cortar con una tijera de manera que el cierre no sea eliminado. Las tiras de microtitulación no usadas se deben guardar de inmediato en la bolsa de aluminio cerrada y a temperaturas entre 2 – 8 °C.

Se debe evitar la incidencia directa de la luz sobre el sustrato incoloro para prevenir la descomposición o su coloración de azul debido a la autoxidación. Si ocurre una coloración azul no se deberá utilizar el sustrato.

6. Reactivos adicionales necesarios – accesorios requeridos

6.1. Reactivos

- Agua destilada o desionizada

6.2. Accesorios

- Tubos de ensayo
- Pipetas desechables (Art. n°.: Z 0001)
- Agitador Vortex (opcional, véase 9.3.)
- Micropipetas de 50 – 100 µl y de 1 ml de volumen
- Probeta (1000 ml)
- Cronómetro
- Instrumento de lavado para las microplacas de titulación o pipetas multicanal (300 µl)
- Fotómetro lector de microplacas de titulación (450 nm, eventualmente filtro de referencia ≥ 600 nm)
- Papel de filtro (paños de laboratorio)
- Recipiente de desechos con una solución de hipoclorito al 0,5%

7. Medidas de seguridad

Sólo para el diagnóstico *in vitro*.

Este test debe ser realizado solamente por personal calificado de laboratorio. Se deben observar las líneas directivas de trabajo para laboratorios médicos. Las instrucciones para el uso del test deben cumplirse estrictamente.

El control positivo que se encuentra en el kit contiene antígeno de Astrovirus inactivado. No obstante usted debe considerarlos, al igual que las muestras de los pacientes, como potencialmente infecciosos y manejarlos en correspondencia con las regulaciones nacionales de seguridad.

No se deben pipetear las muestras o reactivos con la boca, así como también evitar el contacto con la piel lesionada o las mucosas. Durante el trabajo con las muestras deben usarse guantes desechables y lavar las manos después del test. En los locales donde se trabaje con las muestras o reactivos de prueba no está permitido fumar, comer o beber.

El buffer de dilución de muestras y el conjugado contienen Kathon al 0,1% como agente conservante. Se debe evitar, por tanto, el contacto con la piel o mucosas.

El buffer de lavado contiene Timerosal al 0,1% como agente conservante. Se debe evitar, por tanto, el contacto con la piel o mucosas.

El peróxido de hidrógeno puede producir a efectos cáusticos sobre la piel. ¡Manéjese con cuidado!

El reactivo de parada contiene una solución 1 N de ácido sulfúrico ¡Evítese el contacto con la piel o ropas! Si se produce contacto con la piel debe enjuagarse con agua.

Todos los materiales y reactivos que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas se requiere que sean tratados con agentes desinfectantes adecuados o se sometan a autoclave por lo menos durante una hora a 121 °C. ATENCIÓN: Para evitar la formación de gases venenosos deben neutralizarse los residuos líquidos que contengan reactivo de parada antes de echarlos en la solución de hipoclorito.

8. Recolección y conservación de las muestras

El material de examen se debe guardar entre 2 – 8 °C hasta el momento de su elaboración. Si el material no puede ser usado en el espacio de 3 días, se recomienda conservarlo a –20 °C o inferior temperatura. Evite congelar y descongelar las muestras varias veces.

Las muestras de heces o frotis rectales no se deben recolectar en recipientes que contengan medios de transporte, agentes conservantes, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes, debido a posibles interferencias con el test RIDASCREEN® Astrovirus. Si se van a utilizar frotis rectales se debe prestar atención a que haya suficiente material de heces (aprox. 100 mg) para la realización del test.

En los estudios de contactos se deben incluir también muestras de heces de personas sin signos clínicos aparentes para identificar también a los portadores asintomáticos.

9. Realización del test

9.1. Generalidades

Antes de su uso se deben llevar todos los reactivos y la microplaca de titulación **Plate** a la temperatura ambiente (20 – 25 °C). Las tiras de microtitulación no se deben sacar de la bolsa de aluminio hasta que no hayan alcanzado la temperatura del ambiente. Los reactivos se deben mezclar bien inmediatamente antes de su empleo. Posterior a su uso se deben conservar las tiras de microtitulación (cerradas en su bolsa) y los reactivos otra vez a temperaturas entre 2 – 8 °C. Las tiras de microtitulación que se hayan usado una vez no

pueden volverse a utilizar. Los reactivos y las tiras de microtitulación no se deben usar cuando el envase esté dañado o los recipientes hayan perdido su hermeticidad.

Al dejar gotear los reactivos se deberán sostener los viales en posición vertical. Tanto la suspensión de la muestra como los reactivos se deben gotear o pipetear sin que hagan contacto con el borde de los pocillos de la microplaca.

Se debe evitar el contacto directo de las muestras con los componentes del kit para prevenir el riesgo de una contaminación cruzada, así como igualmente evitar la acción directa de la radiación solar durante la ejecución del ensayo.

9.2. Preparación del buffer de lavado

Se mezcla 1 parte del buffer de lavado concentrado **Wash** con 9 partes de agua destilada. Los cristales que pudieran encontrarse en el buffer concentrado se deben solubilizar primeramente con calor (baño María a 37 °C).

9.3. Preparación de las muestras

En un tubo de ensayo rotulado se vierte 1 ml de buffer de dilución de muestras de RIDASCREEN® **Diluent | 1**.

Las heces líquidas se aspiran (aprox. 100 µl) con una pipeta desechable (Art. n°. Z 0001) hasta ligeramente por encima del segundo espesamiento y se suspenden en el buffer preparado. En el caso de heces sólidas se toma una cantidad equivalente (alrededor de 50 – 100 mg) con una espátula o con un asa de siembra desechable y se suspende igualmente en el buffer.

La homogeneización de la suspensión de heces se efectúa mediante aspiración y expulsión con la pipeta desechable o alternativamente por agitación en un vibrador Vortex. Después de dejar reposar un corto tiempo, para lograr la sedimentación de partículas grandes de heces, se emplea directamente el sobrenadante claro obtenido de esta manera. En caso de usar para la determinación analítica un equipo ELISA automático el sobrenadante **tiene** que estar libre de partículas. En estos casos se recomienda para las determinaciones una centrifugación a 2500 G durante 5 minutos.

Observación:

Las muestras de heces diluidas en el **Diluent | 1** se pueden analizar también en el ELISA RIDASCREEN® para Rotavirus, Adenovirus y Norovirus, así como en otros tests ELISA RIDASCREEN® donde se emplee el **Diluent | 1**.

9.4. Primera incubación

Después de introducir una cantidad suficiente de cavidades en el marco de soporte se pipetea en los pocillos 100 µl del control positivo **Control | +**, del buffer de dilución de muestras **Diluent | 1** (= control negativo) o de la muestra de heces en suspensión. A continuación se adicionan 100 µl del anticuerpo conjugado con biotina **Conjugate | 1**, se mezcla bien (mediante ligeros golpes en los bordes de la placa) y se incuba durante 60 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

9.5. Lavado

Un lavado cuidadoso es importante para lograr resultados correctos por lo cual éste debe llevarse a cabo estrictamente según las instrucciones. Las muestras incubadas en las cavidades se deben vaciar primeramente en un recipiente de desechos con hipoclorito para la desinfección. Posteriormente se sacude la placa sobre un papel absorbente para eliminar los restos de humedad. Seguidamente se lava 5 veces con 300 µl de buffer de lavado en cada caso. Después de cada enjuague se debe prestar atención a vaciar completamente la placa sacudiéndola sobre partes secas y no usadas del papel.

Observación:

Cuando se usen lavadores automáticos se debe velar por el ajuste correcto del instrumento al tipo de placa de microtitulación utilizado. Además es preciso que si se tiene una suspensión de heces no totalmente libre de partículas, que éstas sean eliminadas manualmente de las cavidades antes del primer lavado para evitar obstrucciones en las agujas de lavado.

Igualmente se debe velar en los diferentes pasos de lavado por una aspiración completa del líquido. Después del último paso de lavado se debe sacudir la placa cuidadosamente sobre papel absorbente limpio o paños de laboratorio para eliminar la humedad residual.

9.6. Segunda incubación

Se adicionan en las cavidades 100 µl del conjugado poliestreptavidina-peroxidasa Conjugate | 2 y se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

9.7. Lavado

Lavar según el punto 9.5.

9.8. Tercera incubación

Añadir 100µl de sustrato Substrate a cada uno de los pocillos. A continuación se incuba la placa durante 15 minutos a temperatura ambiente (20 - 25 °C) en la oscuridad. Después se adiciona 50 µl de reactivo de parada Stop en cada una de las cavidades para detener la reacción. Se mezcla cuidadosamente (mediante ligeros golpes en los bordes de la placa) y se mide la absorbancia a 450 nm (opcional: Longitud de onda de referencia ≥ 600 nm) La compensación del valor cero se debe realizar contra aire, o sea, sin la microplaca.

Observación:

Muestras de pacientes con niveles positivos altos pueden dar lugar a precipitados negruzcos del sustrato.

10. Control de calidad, información sobre caducidad de reactivos

A efectos de control de calidad, deben utilizarse controles positivos y negativos cada vez que se realice el ensayo con objeto de garantizar que los reactivos son estables y que el ensayo se realiza correctamente. El ensayo se habrá realizado correctamente si la tasa de extinción (DO)

de control negativo es menor que 0,2 a 450 nm (menor que 0,160 a 450/620 nm) y el valor medido para el control positivo es mayor que 0,8 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valor mayor que 0,2 (0,160) para el control negativo puede indicar que el lavado no ha sido suficiente. Las desviaciones de los valores requeridos, como turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de introducirlo en los pocillos, puede indicar que los reactivos han caducado.

Si no se cumplen los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Funcionamiento de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
- Procedimiento de ensayo correcto
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas; no utilizar soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Si los requisitos siguen sin cumplirse después de repetir el ensayo, consultar al fabricante o al distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

11.1. Cálculo del valor límite

Para establecer el valor límite se le suma 0,15 al valor de absorbancia obtenido para el control negativo.

$$\text{cut-off (Valor límite)} = \text{Valor de absorbancia del control negativo} + 0,15$$

11.2. Resultado del test

Se evalúan como **positivas** las muestras cuyo valor de absorbancia se encuentra más de 10% por encima del valor límite calculado.

Se denominan como muestras de **valores límites** y que deben repetirse, aquellas cuyo valor de absorbancia está en el rango de 10% por encima o por debajo del valor límite. Si una repetición del análisis con una muestra de heces fresca posee de nuevo valores que corresponden al rango gris, entonces se debe evaluar la muestra como negativa.

Las muestras cuyos valores se encuentren en más de 10% por debajo del valor límite calculado se evalúan como **negativas**.

12. Limitaciones del método

El test RIDA[®] Astrovirus detecta antígenos de Astrovirus en muestras de heces. No es posible a partir de este test deducir una relación entre la magnitud de un valor de absorbancia obtenido y la manifestación o gravedad de síntomas clínicos. **Los resultados obtenidos siempre deben interpretarse de conjunto con el cuadro clínico.** También existen portadores asintomáticos que pueden excretar el virus (estudio de contactos), cuya detección es posible con el ELISA. El aspecto decisivo es siempre la carga viral presente en cada caso. Un resultado **positivo** no excluye la presencia de otros agentes infecciosos. Las infecciones dobles o múltiples de

agentes patógenos potenciales de la gastroenteritis se han descrito ampliamente y pueden ser determinadas por diagnóstico diferencial. La sintomatología clínica se manifiesta frecuentemente con mayor intensidad en estos casos que cuando se presenta la infección monocausal.

Un resultado **negativo** no excluye una posible infección por Astrovirus. Esto puede ocurrir debido a una posible excreción intermitente del virus, por obtención de la muestra en un momento inadecuado, por una carga viral muy baja o por un manejo incorrecto de la muestra (véase Punto 8, "Recopilación y conservación de las muestras"). Si existe la sospecha anamnésica fundada de una infección con Astrovirus se debe repetir el análisis con otra muestra de heces.

Un resultado con **valores límites** puede estar ocasionado por una distribución no homogénea del virus en la muestra de heces, por una carga viral por debajo del nivel umbral del ELISA al inicio o al final de la infección o debido a una limpieza insuficiente de los pocillos de la microplaca. Por este motivo se debe examinar en tales casos una segunda suspensión de la misma muestra o solicitar otra muestra de heces para repetir el análisis.

Las muestras de meconio no han sido validadas hasta ahora con el test RIDASCREEN® Astrovirus – ELISA y por tanto deben ser interpretadas con precaución. Hasta el presente no se han observado influencias en el análisis de las muestras de heces negativas al Astrovirus a las que se adicionaron los distintos artículos para el cuidado e higiene de los lactantes como cremas, aceites y pomadas, las cuales pudieran llegar a la muestra al acopiar las heces de los pañales. Tampoco las muestras de heces positivas al Astrovirus fueron influenciadas negativamente por los productos de marca evaluados.

13. Características de rendimiento

13.1. Calidad de las pruebas

En un estudio de validación retrospectivo con el ELISA RIDASCREEN® Astrovirus se analizaron 92 muestras de heces. Las muestras se homogeneizaron y se realizó un estudio comparativo mediante el ELISA RIDASCREEN® Astrovirus y otro ELISA comercial. Los resultados de este análisis se resumen en la tabla 1.

Tabla 1: Correlación entre el ELISA RIDASCREEN® Astrovirus y otro ELISA comercial

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

Coincidencia positiva: 100 %

Coincidencia negativa: 100 %

13.2. Reactividad cruzada

Se analizaron diferentes microorganismos patógenos del tracto intestinal con el ELISA RIDASCREEN® Astrovirus sin que pudiera observarse reactividad cruzada. Estos estudios se realizaron con suspensiones bacterianas que presentaban concentraciones de 10^6 a 10^9 organismos por ml. Los sobrenadantes de los cultivos víricos se resumen en la lista correspondiente. Los resultados de este estudio se resumen en la tabla 2.

Tabla 2: Reactividad cruzada con microorganismos patógenos

Germen de prueba	Procedencia	[OD450/620] Valor medio
Adenovirus	Sobrenadante de cultivo celular	0.032
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultivo	0.023
<i>Bacillus cereus</i>	Cultivo	0.054
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultivo	0.034
<i>Campylobacter coli</i>	Cultivo	0.039
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultivo	0.031
<i>Candida albicans</i>	Cultivo	0.049
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultivo	0.028
<i>Clostridium difficile</i>	Cultivo	0.032
<i>Clostridium perfringens</i>	Cultivo	0.031
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultivo	0.033
<i>Cryptosporidium muris</i>	Cultivo	0.025
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultivo	0.026
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Cultivo	0.035
<i>E. coli</i> (O6)	Cultivo	0.030
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Cultivo	0.039
<i>Entamoeba histolytica</i>	Cultivo	0.045
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultivo	0.028
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultivo	0.033
<i>Giardia lamblia</i>	Cultivo	0.032
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultivo	0.035
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultivo	0.035
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultivo	0.035
Rotavirus	Sobrenadante de cultivo celular	0.029
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultivo	0.030
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultivo	0.033
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultivo	0.022
<i>Shigella flexneri</i>	Cultivo	0.024
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultivo	0.054
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultivo	0.035
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultivo	0.030
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultivo	0.031

13.3. Precisión

La reproducibilidad del ELISA RIDASCREEN® Astrovirus se analizó con seis referencias representativas del rango de medida completo, desde negativo a positivo alto. Para determinar la reproducibilidad intraensayo se ensayaron 40 réplicas de estas referencias. Se determinaron

los valores medios y los coeficientes de variación (CV) para tres lotes del kit. Para la reproducibilidad interensayo, se ensayaron las referencias en forma de duplicados en un total de 20 análisis durante varios días. Las mediciones fueron realizadas por tres técnicos utilizando tres lotes. Para la reproducibilidad interlote se combinaron los resultados de los tres lotes. Los resultados de este estudio se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Reproducibilidad y precisión del ELISA RIDASCREEN® Astrovirus

Referencia Valor medio/CV		Intraensayo			Interensayo			Interlote
		Lote 1 del kit	Lote 2 del kit	Lote 3 del kit	Lote 1 del kit	Lote 2 del kit	Lote 3 del kit	Lotes 1-3 del kit
1	MV	2.447	2.146	1.694	1.682	1.655	1.808	1.715
	CV (%)	4.74 %	6.62 %	4.25 %	10.55 %	9.38 %	9.11 %	10.62 %
2	MV	1.879	1.596	1.285	1.254	1.223	1.350	1.275
	CV (%)	5.75 %	6.71 %	5.99 %	8.62 %	10.50 %	9.64 %	10.76 %
3	MV	1.094	0.884	0.776	0.738	0.708	0.798	0.748
	CV (%)	6.40 %	7.04 %	8.21 %	12.80 %	11.19 %	12.75 %	13.56 %
4	MV	0.746	0.602	0.523	0.560	0.528	0.589	0.559
	CV (%)	5.89 %	7.79 %	8.89 %	14.83 %	14.84 %	15.45 %	15.69 %
5	MV	0.370	0.281	0.356	0.275	0.252	0.279	0.269
	CV (%)	15.97 %	12.41 %	15.12 %	12.59 %	15.04 %	13.81 %	14.59 %
6	MV	0.040	0.018	0.065	0.033	0.022	0.020	0.025
	CV (%)	n/a						

13.4. Sensibilidad analítica

Para determinar la sensibilidad analítica del ELISA RIDASCREEN® Astrovirus, se ha establecido el LoB (límite del blanco) con 90 mediciones de muestras negativas. Posteriormente, se ha determinado el LoD (límite de detección) con 30 mediciones de un lisado de células que habían sido infectadas por astrovirus. Los resultados de estas mediciones se resumen en la tabla 4.

Tabla 4: Resultados de la determinación de la sensibilidad analítica del ELISA RIDASCREEN® Astrovirus

	MV [OD450/620]	ng/ml
LoB	0.027	-
LoD	-	8.5

14. Sustancias interferentes

Las sustancias de la siguiente lista no mostraron efectos en los resultados de las pruebas cuando se mezclaron con muestras de heces positivas y negativas para astrovirus en las concentraciones descritas: sulfato de bario (18,5 % p/p), loperamida (0,02 % p/p), ciclamato/sacarina (1,3 % v/p), sangre humana (5,0 % v/p), metronidazol (3,0 % v/p), diclofenaco (0,1 % v/p).

El Pepto-Bismol, las mucinas, el ácido esteárico y el ácido palmítico podrían causar una reducción de extinciones.

Anexo

Símbolos específicos del ensayo:

Plate	Placa de microtitulación
Diluent 1	Búfer de dilución de la muestra
Wash	Búfer de lavado
Control +	Control positivo
Control -	Control negativo
Conjugate 1	Conjugado 1
Conjugate 2	Conjugado 2
Substrate	Sustrato
Stop	reactivo de parada

Bibliografía

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)