

RIDASCREEN[®] Astrovirus

Réf. : C1301



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

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



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Astrovirus est un test immuno-enzymatique destiné à l'identification qualitative des *astrovirus* dans des échantillons de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

Les *Astroviridae* ont été décrits pour la première fois par Appleton et Higgins en 1975. À l'aide d'un microscope électronique, Madeley et Cosgrove ont ensuite permis de visualiser ce petit virus rond dans des échantillons de selles d'enfants souffrant de diarrhée. Le nom qu'ils lui ont donné reflète son aspect en forme d'étoile. Cette famille forme avec les *Caliciviridae* et plusieurs autres virus, le groupe des petits virus ronds structurés (Small Round Structured Viruses ou SRSV) dont les surfaces sont remarquablement structurées, à la différence de celle du groupe des petits virus ronds (Small Round Viruses ou SRV), qui est lisse et non structurée. Le groupe des SRV inclut aussi, entre autres, les familles des parvovirus et des picornavirus.

La signification épidémiologique de la gastroentérite provoquée par les astrovirus était très mal connue pendant la période où le microscope électronique était le seul outil permettant de détecter les virus. De ce fait, la fréquence des infections par astrovirus accompagnées de diarrhée ou de diarrhée et de vomissements a été grandement sous-estimée. Ceci s'explique par la sensibilité relativement faible du microscope électronique (ME), mais aussi du fait qu'il n'était pas toujours possible de clairement distinguer les particules des SRV. Le faible taux d'incidence de 1 % ne correspondait pas aux données séroépidémiologiques disponibles qui indiquaient que jusqu'à 70 % des enfants plus âgés et des jeunes adultes étaient porteurs d'anticorps spécifiques contre les astrovirus.

Des méthodes plus récentes comme le test immunoenzymatique, qui est de 10 à 100 fois plus sensible que le ME et la méthode de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) très sensible dont les seuils de détection atteignent 10^2 particules par échantillon de selles, ont notablement augmenté la signification et la participation de l'astrovirus dans le diagnostic différentiel des cas de diarrhée. Actuellement, l'incidence des astrovirus dans les cas de diarrhée aiguë varie de 2,5 à 10 %, valeur qui se trouve dans la plage de fréquence des infections par adénovirus (types 40/41). L'astrovirus est la troisième cause de gastroentérite non bactérienne la plus fréquente, après le norovirus et le rotavirus.

Parmi les 8 sérotypes actuellement connus, les sérotypes 1 à 5 sont les plus importants. La gastroentérite provoquée par l'astrovirus peut toucher toutes les tranches d'âge, même si elle est plus fréquemment rencontrée chez les enfants et les personnes âgées. On observe le plus souvent des flambées de cette infection dans les jardins d'enfants, les écoles, les hôpitaux et les maisons de retraite, mais la gastroentérite à astrovirus se produit aussi spontanément dans un environnement militaire et les groupes de touristes. Ce virus est tout autant infectieux que le rotavirus. L'infection est transmise par la nourriture contaminée (principalement les huîtres), par l'eau et la voie de transmission oro-fécale. Le test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA utilise des

anticorps très spécifiques pour une identification fiable des antigènes d'astrovirus dans des échantillons de selles dilués.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® Astrovirus utilise des anticorps spécifiques en appliquant une méthode de type sandwich. La surface des puits de la microplaque est revêtue d'anticorps monoclonaux ciblant tous les sérotypes d'astrovirus connus. Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps monoclonaux anti-astrovirus biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la microplaque, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). En présence d'astrovirus dans un échantillon de selles, un complexe en sandwich se forme à partir des anticorps immobilisés, des antigènes de l'astrovirus et des anticorps conjugués avec le complexe biotine-streptavidine-peroxydase. Le conjugué polyperoxydase-streptavidine non lié est éliminé au cours d'une autre étape de lavage. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration des astrovirus présents dans l'échantillon.

4. Réactifs fournis

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96 det.	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support ; revêtue d'anticorps monoclonaux anti-astrovirus
Diluent 1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
Control +	2 ml	Contrôle positif ; culture d'astrovirus inactivés ; prêt à l'emploi
Control -	2 ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate 1	13 ml	Anticorps anti-astrovirus monoclonaux conjugués à la biotine dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur jaune
Conjugate 2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

5. Les réactifs et leur stockage

Tous les réactifs doivent être entreposés entre 2 et 8 °C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué doit être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C.

Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Autres réactifs et matériels nécessaires

6.1. Réactifs fournis

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Équipement

- Tubes à essai
- Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
- Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
- Micropipettes pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
- Éprouvette graduée (1 000 ml)
- Chronomètre
- Appareil de lavage pour microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour microplaques (450 nm et filtre de référence à 620-650 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets avec 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Précautions à prendre par l'utilisateur

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées doit être évité. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

La trousse comprend un contrôle positif qui contient l'antigène inactivé de l'astrovirus. Ce contrôle doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux, de la même manière que l'échantillon du patient.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Avant utilisation, entreposer le matériel de test entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois.

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Astrovirus.

Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg).

La recherche des contacts doit inclure des tests sur des échantillons de selles provenant des personnes ayant été en contact qui ne présentent pas de symptômes cliniques, afin d'identifier des porteurs asymptomatiques.

9. Procédures de test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la Plate doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient.

Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts au préalable, en les réchauffant dans un bain d'eau à 37 °C.

9.3. Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons **Diluent | 1** de RIDASCREEN®. Aspirer un échantillon de selles liquides (environ 100 µl) au moyen d'une pipette à usage unique (réf. Z0001) jusqu'au-dessus du deuxième repère et ajouter au tampon du tube à essai pour obtenir une suspension. Lorsque les échantillons proviennent de selles dures, ajouter une quantité équivalente de l'échantillon de selles (environ 50 à 100 mg) prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex. Laisser la suspension reposer pendant une courte période (10 minutes) pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; le liquide clair surnageant la suspension de selles peut être directement utilisé pour le test. Si la procédure de test est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant doit être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation à 2 500 G pendant 5 minutes est recommandée.

Remarque :

Des échantillons de selles dilués dans le **Diluent | 1** peuvent être soumis à tous les tests RIDASCREEN® ELISA qui utilisent le **Diluent | 1**.

9.4. Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du **Control | +**, du **Control | -** ou de la suspension de l'échantillon de selles dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl de l'anticorps conjugué à la biotine **Conjugate | 1** et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 60 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.5. Lavage

Un lavage soigneux est important afin d'obtenir des résultats corrects ; il convient donc de suivre les instructions fournies à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations locales. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé. Demander, au besoin, au

fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir paragraphe 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

9.6. Deuxième incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué polyperoxydase-streptavidine **Conjugate 2** dans les puits, puis incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.7. Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif d'arrêt **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à 450 nm (en variante : à 450/620 nm). Le réglage de la valeur nulle doit s'effectuer dans l'air, et donc sans la microplaque.

Remarque :

des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.

10. Contrôle qualité – signes de réactif périmé

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450 nm est inférieure à 0,2 (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et lorsque la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à 0,8 à 450 nm ou à 450/620 nm. Une valeur supérieure à 0,2 (0,160) pour le contrôle négatif pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Calcul de la valeur seuil

Pour déterminer la valeur seuil, on ajoute 0,15 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,15$$

11.2. Résultats du test

Un échantillon est estimé comme étant positif lorsque sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est estimé comme étant limite si sa valeur d'extinction se situe dans une plage allant de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon est considéré comme étant négatif.

Des échantillons ayant des valeurs d'extinction inférieures à -10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme étant négatifs.

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN[®] Astrovirus permet d'identifier les antigènes de l'astrovirus dans les échantillons de selles. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques.

Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés en rapport au tableau clinique. Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection par astrovirus. Un tel résultat peut être causé par l'élimination temporaire du virus ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par astrovirus, un autre prélèvement de selles doit être examiné.

Un résultat limite peut être causé par une répartition non homogène des virus dans l'échantillon des selles. Dans un tel cas, l'examen doit être répété avec une deuxième suspension provenant du même échantillon ou il convient de demander un autre prélèvement de selles à examiner.

13. Performances

13.1. Sensibilité analytique

Une étude de validation rétrospective utilisant le test RIDASCREEN[®] Astrovirus ELISA a examiné 92 échantillons de selles. Les échantillons ont été homogénéisés et soumis à un

examen comparatif avec le test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA et un autre test ELISA disponible dans le commerce. Les résultats de cet examen sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1. Corrélation entre le test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA et un autre test ELISA disponible dans le commerce

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

Corrélation positive : 100 %

Corrélation négative : 100 %

13.2. Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés avec le test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA et n'ont pas présenté de réactivité croisée. Ces études ont été réalisées avec des suspensions de bactéries dont les concentrations étaient de 10^6 à 10^9 organismes par ml. Les surnageants de la culture de virus sont également indiqués. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2. Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes

Agent pathogène testé	Origine	[OD450/620] Valeur moyenne
Adenovirus	Surnageant de culture cellulaire	0.032
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	0.023
<i>Bacillus cereus</i>	Culture	0.054
<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	0.034
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	0.039
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	0.031
<i>Candida albicans</i>	Culture	0.049
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	0.028
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	0.032
<i>Clostridium perfringens</i>	Culture	0.031
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	0.033
<i>Cryptosporidium muris</i>	Culture	0.025
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	0.026
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Culture	0.035
<i>E. coli</i> (O6)	Culture	0.030
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Culture	0.039
<i>Entamoeba histolytica</i>	Culture	0.045
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	0.028
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	0.033
<i>Giardia lamblia</i>	Culture	0.032
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Culture	0.035
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	0.035

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	0.035
Rotavirus	Surnageant de culture cellulaire	0.029
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	0.030
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	0.033
<i>Serratia liquefaciens</i>	Culture	0.022
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	0.024
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	0.054
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	0.035
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	0.030
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	0.031

13.3. Précision

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA a été étudiée avec six références qui couvrent l'ensemble de la plage de mesure des valeurs négatives à fortement positives. Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées. Les valeurs moyennes et le coefficient de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots de trousse. Pour la reproductibilité inter-tests, les références de 20 passages au total ont été mesurées en double sur plusieurs jours. Les mesures ont été effectuées avec trois lots par trois techniciens. Pour les résultats de la reproductibilité inter-lots, les résultats des trois lots ont été combinés. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3. Reproductibilité et précision du test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA

Référence	Valeur moyenne/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lots
		Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot 1 à 3
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	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

13.4. Sensibilité analytique

Pour déterminer la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA, la limite du blanc (LB) a été déterminée avec 90 mesures d'échantillons négatifs. Ensuite, la limite de détection (LD) a été déterminée avec 30 mesures d'un lysat de cellules ayant été infectées par des astrovirus. Les résultats de ces mesures sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4. Résultats de la détermination de la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA

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

14. Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont pas présenté d'effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans des échantillons de selles positifs et négatifs pour l'astrovirus dans les concentrations indiquées : sulfate de baryum (18,5 % p/p), lopéramide (0,02 % p/p), cyclamate/saccharine (1,3 % v/p), sang humain (5,0 % v/p), métronidazole (3,0 % v/p), diclofénac (0,1 % v/p).

Le Pepto-bismol, les mucines, l'acide stéarique et l'acide palmitique pourraient entraîner une réduction des extinctions.

Annexe

Symboles spécifiques au test :

Plate	Microplaque
Diluent 1	Tampon de dilution d'échantillon
Wash	Tampon de lavage
Control +	Contrôle positif
Control -	Contrôle négatif
Conjugate 1	Conjugué 1
Conjugate 2	Conjugué 2
Substrate	Substrat
Stop	Réactif d'arrêt

Bibliographie

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)