

RIDASCREEN[®] Astrovirus

Codice prodotto: C1301



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

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



1. Campo di applicazione

Per uso diagnostico *in vitro*. RIDASCREEN® Astrovirus è un test immunoenzimatico per la rilevazione qualitativa di astrovirus in campioni di feci umane.

2. Sintesi e spiegazione del test

Gli *astrovirus* sono stati descritti per la prima volta nel 1975 dal Appleton ed Higgings. Devono il proprio nome, per il loro aspetto a stella, a Madeley e Cosgrove che, utilizzando un microscopio elettronico, resero questi piccoli virus rotondi visibili nei campioni di feci dei bambini affetti da diarrea. Insieme con i *calicivirus* e numerosi altri virus, gli astrovirus appartengono ai cosiddetti Small Round Structured Virus (SRSV) che si differenziano dal gruppo degli Small Round Virus (SRV) aventi superficie piana, non strutturata, per la loro superficie straordinariamente strutturata. Tra gli altri, appartengono agli SRV i *parvovirus* e i *picornavirus*.

Negli anni in cui era diffuso solamente l'impiego della microscopia elettronica come metodo di rilevazione, l'importanza epidemiologica delle gastroenteriti causate dagli *astrovirus* era molto poco chiara e la frequenza delle infezioni da astrovirus con diarrea o diarrea combinata a vomito era stata notevolmente sottovalutata. Ciò è dipeso in base dalla relativa insensibilità del microscopio elettronico (EM), ma anche dalla classificazione non sempre chiara delle particelle SRV. La bassa incidenza dell'1% non corrispondeva ai dati siero-epidemiologici rilevati, secondo i quali fino al 70 % dei bambini più grandi e dei giovani adulti possedevano anticorpi specifici

anti astrovirus.

Soltanto con l'avvento di tecniche più avanzate, quali test immuno-enzimatici da 10 a 100 volte più sensibili dell'EM, e metodi PCR ad alta sensibilità con soglie di rilevazione pari a fino 10^2 particelle per ml di campione di feci, l'importanza e l'incidenza degli astrovirus assunse sempre maggiore rilevanza nella diagnosi differenziali diarroiche. L'attuale incidenza degli astrovirus nelle affezioni diarroiche acute è compresa tra il 2,5 % e il 10 % e ha lo stesso valore dell'incidenza nota di uno degli adenovirus (tipo 40/41). Gli astrovirus rappresentano pertanto, dopo i norovirus e i rotavirus, la terza causa di gastroenteriti non batteriche.

Dei 8 sierotipi attualmente noti, 1 - 5 sierotipi sono particolarmente rilevanti. La gastroenterite causata da astrovirus può presentarsi in tutti i gruppi di età, benché sia massimamente frequente nell'età infantile e senile. Le manifestazioni di tali affezioni si riscontrano maggiormente in asili, scuole, ospedali e nelle case in cui vi è la presenza di anziani, ma la gastroenterite dovuta ad astrovirus può comparire spontaneamente anche nell'ambiente militare e in gruppi di viaggio. Il grado di infettività corrisponde a quello dei rotavirus. L'infezione avviene per mezzo di generi alimentari contaminati (in particolare le ostriche), l'acqua e per via di trasmissione oro-fecale.

Il test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA si avvale di anticorpi altamente specifici per consentire una rilevazione sicura di antigeni di astrovirus in campioni di feci diluiti.

3. Principio del test

Il test RIDASCREEN® Astrovirus utilizza anticorpi specifici in un metodo a sandwich. Anticorpi monoclonali contro tutti i sierotipi noti di astrovirus sono rivestiti sulla superficie dei pozzetti della piastra per microtitolazione. Una sospensione del campione di feci da esaminare e i controlli vengono introdotti nel pozzetto della piastra per microtitolazione insieme ad anticorpi anti-astrovirus monoclonali biotinilati (Coniugato 1) mediante pipetta a temperatura ambiente (20 – 25 °C) per l'incubazione. Dopo il lavaggio aggiungere il poli-coniugato streptavidina-perossidasi (Coniugato 2) e incubare nuovamente a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Alla presenza di astrovirus nel campione di feci si forma un complesso a sandwich composto dagli anticorpi immobilizzati, gli antigeni astrovirus e gli anticorpi coniugati con il complesso biotina-streptavidina-perossidasi. Un altro lavaggio rimuove il poli-coniugato streptavidina-perossidasi non legato. Nei campioni positivi, l'aggiunta di un substrato trasforma l'enzima legato da una soluzione incolore in una soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica da blu a giallo. L'estinzione è proporzionale alla concentrazione di astrovirus presenti nel campione.

4. Reagenti forniti

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Plate	96 det.	Piastra per microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (separabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con anticorpi monoclonali specifici anti-astrovirus
Diluent 1	100 ml	Tampone di diluizione del campione, soluzione salina proteica tamponata, pronta per l'uso, colorazione blu
Wash	100 ml	Tampone di lavaggio, soluzione tamponata al fosfato NaCl (concentrata 10 volte); contiene 0,1% di Thimerosal
Control +	2 ml	Controllo positivo; coltura di astrovirus inattivata, pronto per l'uso
Control -	2 ml	Controllo negativo (tampone di diluizione dei campioni); pronto per l'uso
Conjugate 1	13 ml	Anticorpi anti-astrovirus monoclonali coniugati in biotina in soluzione proteica stabilizzata; pronto per l'uso; colorazione in giallo
Conjugate 2	13 ml	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi in soluzione proteica tamponata; pronto per l'uso; colorato in arancione
Substrato	13 ml	Perossido di idrogeno/TMB; pronto per l'uso
Stop	12 ml	Reagente di bloccaggio; acido solforico 1 N; pronto per l'uso

5. Reagenti e loro conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a 2 - 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito è utilizzabile per quattro settimane se conservato a una temperatura compresa tra 2 - 8 °C. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza, non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità.

La busta in alluminio deve essere aperta con le forbici, in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce per microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente riposte nella busta in alluminio e conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per evitare la decomposizione o la colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

6. Reagenti aggiuntivi necessari – attrezzatura richiesta

6.1. Reagenti forniti

- Acqua distillata o deionizzata

6.2. Attrezzatura

- Provette
- Pipette monouso (Codice articolo: Z0001)
- Vorticatore (opzionale, vedere Punto 9.3.)
- Micropipetta da 50 – 100 µl e 1 ml in volume
- Cilindro graduato (1.000 ml)
- Cronometro
- Dispositivo di lavaggio per piastre per microtitolazione o pipette multicanale (300 µl)
- Fotometro per piastre per microtitolazione (450 nm e filtro di riferimento 620 - 650 nm)
- Carta filtrante (carta da laboratorio)
- Contenitore di rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5%

7. Precauzioni per gli utilizzatori

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso nell'esecuzione del test.

Non introdurre con la bocca campioni o reagenti mediante pipetta, evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e lavare le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni. Per maggiori informazioni consultare la Scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) all'indirizzo www.r-biopharm.com.

Il kit include un controllo positivo che contiene la coltura di astrovirus inattivata. Deve essere trattato come potenzialmente infettivo, analogamente al campione del paziente, e maneggiato in conformità alle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti.

Il tampone di lavaggio contiene 0,1 % di Thimerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le membrane mucose.

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

Fino all'uso, conservare il materiale di test a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Qualora il materiale non possa essere utilizzato per un test entro tre giorni, si raccomanda di conservarlo a una temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione.

I campioni di feci e i prelievi rettali non devono essere riposti in contenitori per il trasporto contenenti sostanze per il trasporto come conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti e detergenti, in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN® Astrovirus.

Se vengono usati prelievi rettali, assicurarsi che il volume del materiale fecale sia sufficiente (circa 100 mg) per il test.

Le indagini ambientali devono includere anche l'analisi di campioni di feci prelevati da persone che non mostrano sintomi clinici al fine di identificare i portatori asintomatici.

9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra di microtitolazione devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce per microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'uso, riporre le strisce di microtitolazione (poste in buste sigillate) e i reagenti a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce per microtitolazione non devono essere riutilizzate. I reagenti e le strisce per microtitolazione non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o i flaconi non sono ermetici.

Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione incrociata.

Il test non deve essere esposto all'irradiazione solare diretta. Si raccomanda di coprire la piastra per microtitolazione o di sigillarla con una pellicola in plastica per evitare la perdita per evaporazione.

9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato di tampone di lavaggio **Wash** con 9 parti di acqua distillata. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere precedentemente riscaldati in un bagnomaria a 37 °C per scioglierli.

9.3. Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta marcata 1 ml di tampone per diluizione dei campioni RIDASCREEN® **Diluent | 1**. Utilizzare una pipetta monouso (codice prodotto Z0001) per aspirare un campione di feci liquide (circa 100 µl) fino a superare di poco la seconda graduazione e aggiungerlo al tampone nella provetta per ottenere una sospensione. In caso di campioni di feci solide, introdurre una quantità equivalente del campione di feci (circa 50–100 mg) con una spatola o ansa di inoculazione monouso e procedere alla sospensione.

Omogeneizzare la sospensione fecale mediante aspirazione ed espulsione tramite pipetta monouso oppure, in alternativa, miscelare in un vorticatore. Lasciare riposare la sospensione per un breve periodo (10 minuti) affinché le particelle di feci più grandi possano depositarsi, quindi il supernatante di sospensioni di feci purificato è pronto per essere utilizzato direttamente nel test. Se la procedura viene eseguita in un sistema ELISA automatico, il supernatante non deve contenere particelle. In questo caso, è consigliabile centrifugare il campione a 2.500 G per 5 minuti.

Nota:

I campioni di feci diluiti in **Diluent | 1** possono essere testati in tutti i dosaggi RIDASCREEN® ELISA per cui viene usato il diluente **Diluent | 1**.

9.4. Prima incubazione

Dopo aver inserito un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, introdurre 100 µl di **controllo positivo | +**, **controllo negativo | -** o sospensione di feci. Quindi aggiungere 100 µl dell'anticorpo biotina-coniugato **Conjugate | 1** e miscelare (dando dei leggeri colpi sul bordo della piastra); successivamente incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

9.5. Lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere i giusti risultati e deve pertanto essere effettuato in stretta conformità con le istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti per poi essere smaltito nel rispetto delle disposizioni locali. Quindi, tamponare la piastra su carta assorbente per rimuovere l'umidità residua. Lavare la piastra cinque volte utilizzando 300 µl di tampone di lavaggio ogni volta. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati estroflettendoli tamponandoli dopo ciascun lavaggio su un'area di carta assorbente ancora asciutta e inutilizzata.

Se si utilizza una lavatrice per micropiastre o un sistema ELISA completamente automatico, assicurarsi che la macchina sia correttamente regolata e, se necessario, chiedere le

impostazioni al produttore. I dispositivi forniti da R-Biopharm sono già programmati con le impostazioni e i protocolli di lavoro convalidati. Per evitare di bloccare gli aghi di lavaggio, introdurre solo sospensioni di feci prive di particelle (vedere Punto 9.3., Preparazione dei campioni). Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase di lavaggio.

9.6. Seconda incubazione

Utilizzare una pipetta per introdurre 100 µl di poli-coniugato streptavidina-perossidasi **Conjugate 2** nei campioni, quindi incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

9.7. Lavaggio

Lavare come descritto al Punto 9.5.

9.8. Terza incubazione

Iniettare nei pozzetti 100 µl di substrato **Substrate**. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Successivamente inserire in tutti i pozzetti 50 µl di reagente bloccante **Stop** per arrestare la reazione. Dopo aver accuratamente miscelato picchiando leggermente sul lato della piastra, misurare l'estinzione a 450 nm (opzionale: 450/620 nm). Regolare il punto zero contro aria, ovvero senza la piastra per microtitolazione.

Nota:

I campioni di pazienti altamente positivi possono causare precipitati nerastri del substrato.

10. Controllo della qualità – indicazioni della scadenza dei reagenti

Per il controllo della qualità eseguire il controllo positivo e negativo ad ogni esecuzione del test al fine di garantire la stabilità dei reagenti e la corretta esecuzione del test. Il test è eseguito correttamente se il tasso di estinzione (OD) del controllo negativo è inferiore a 0,2 a 450 nm (inferiore a 0,160 a 450/620 nm) e il valore misurazione del controllo positivo è superiore a 0,8 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valore superiore a 0,2 (0,160) per il controllo negativo può indicare un lavaggio insufficiente. La deviazione dai valori richiesti, proprio come un'opacizzazione o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'inserimento nei pozzetti, può indicare che i reagenti sono scaduti.

Se i valori stipulati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (p.es. calibrazione)
- Procedura di esecuzione del test corretta
- Controllare visivamente che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite: non utilizzare una soluzione di substrato che sia diventata blu.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

11.1. Calcolo del valore limite

Per stabilire il valore limite, introdurre 0,15 unità di estinzione all'estinzione misurata per il controllo negativo.

$$\text{Valore limite} = \text{estinzione per il controllo negativo} + 0,15$$

11.2. Risultati del test

Il campione è considerato positivo se il tasso di estinzione supera il valore limite calcolato di più del 10 %.

Il campione viene considerato marginale se il tasso di estinzione è compreso tra 10 % in meno e 10 % in più rispetto al valore limite. Se l'esame ripetuto con un campione di feci fresco rientra ancora nella zona grigia, il campione viene considerato negativo.

I campioni con estinzioni superiori al 10 % al di sotto del limite calcolato devono essere considerati negativi.

12. Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® Astrovirus rileva la presenza di antigeni dell'astrovirus nei campioni di feci. Non è possibile stabilire una relazione tra il livello di estinzione rilevato e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati nel contesto del quadro clinico.

Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni infettivi.

Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da astrovirus. Un risultato simile può essere dovuto a escrezione intermittente del virus oppure è possibile che la quantità di antigene nel campione sia insufficiente. Qualora a livello anamnestico sussista il sospetto di infezione da astrovirus, l'esame deve essere ripetuto con un altro campione di feci.

Un risultato marginale può essere dovuto a distribuzione non omogenea delle tossine nel campione di feci. In questo caso, l'esame deve essere ripetuto con una seconda sospensione dallo stesso campione o in alternativa dovrà essere richiesto un altro campione di feci.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Qualità del test

In uno studio retrospettivo di validazione con il RIDASCREEN® Astrovirus ELISA sono stati esaminati 92 campioni di feci. I campioni sono stati omogeneizzati ed esaminati per confronto con RIDASCREEN® Astrovirus ELISA e un altro ELISA commerciale. I risultati di questo esame sono riepilogati nella Tabella 1.

Tabella 1: Correlazione di RIDASCREEN® Astrovirus ELISA rispetto a un altro ELISA commerciale

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

Concordanza positiva: 100%
 Concordanza negativa: 100%

13.2. Reattività incrociata

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA e non hanno evidenziato alcuna reattività incrociata. Questi studi sono stati

condotti con sospensioni batteriche che presentavano una concentrazione di organismi da 10^6 a 10^9 per ml. I surnatanti della coltura virale sono indicati rispettivamente. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 2.

Tabella 2: Reattività incrociata con microrganismi patogeni

Patogeno testato	Origine	[OD450/620] Valore medio
Adenovirus	Supernatante di coltura cellulare	0.032
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Coltura	0.023
<i>Bacillus cereus</i>	Coltura	0.054
<i>Bacteroides fragilis</i>	Coltura	0.034
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	0.039
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	0.031
<i>Candida albicans</i>	Coltura	0.049
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	0.028
<i>Clostridium difficile</i>	Coltura	0.032
<i>Clostridium perfringens</i>	Coltura	0.031
<i>Clostridium sordellii</i>	Coltura	0.033
<i>Cryptosporidium muris</i>	Coltura	0.025
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	0.026
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Coltura	0.035
<i>E. coli</i> (O6)	Coltura	0.030
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Coltura	0.039
<i>Entamoeba histolytica</i>	Coltura	0.045
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	0.028
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	0.033
<i>Giardia lamblia</i>	Coltura	0.032
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Coltura	0.035
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	0.035

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	0.035
Rotavirus	Supernatante di coltura cellulare	0.029
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	0.030
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	0.033
<i>Serratia liquefaciens</i>	Coltura	0.022
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	0.024
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	0.054
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Coltura	0.035
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Coltura	0.030
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Coltura	0.031

13.3. Precisione

La riproducibilità del test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA è stata verificata su sei riferimenti che rappresentano l'intero range di misurazione da negativo ad altamente positivo. Per la determinazione della riproducibilità intra-analisi sono stati esaminati 40 replicati di questi riferimenti. Sono stati determinati i valori medi e il coefficiente di variazione (CV) per tre lotti dei kit. Per la riproducibilità inter-analisi le misurazioni dei riferimenti sono state eseguite con test doppi, per un totale di 20 serie nel corso di diversi giorni. Le misurazioni sono state determinate da tre tecnici che hanno utilizzato tre lotti. Per la riproducibilità inter-lotto sono stati combinati i risultati dei tre lotti. I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 3.

Tabella 3: Riproducibilità e precisione del test RIDASCREEN® Astrovirus ELISA

Riferimento Valore medio/CV		Intra-analisi			Inter-analisi			Inter-lotto
		Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1- 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						

13.4. Sensibilità analitica

Per rideterminare la sensibilità analitica di RIDASCREEN® Astrovirus ELISA, il limite di bianco (LoB) è stato stabilito con 90 misurazioni di campioni negativi. Successivamente il limite di rilevazione (LoD) è stato determinato effettuando 30 misurazioni di un lisato di cellule infettate da astrovirus. I risultati di queste misurazioni sono riassunti nella Tabella 4.

Tabella 4: Risultati della determinazione della sensibilità analitica di RIDASCREEN® Astrovirus ELISA

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

14. Sostanze interferenti

Le sostanze elencate di seguito non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate in campioni di feci positivi e negativi agli astrovirus nelle concentrazioni descritte: solfato di bario (18,5% w/w), loperamide (0,02% w/w), ciclamato/saccarina (1,3% v/w), sangue umano (5,0% v/w), metronidazolo (3,0% v/w), diclofenac (0,1% v/w).

Peptobismol, mucine, acido stearico e acido palmitico possono portare a una riduzione delle estinzioni.

Appendice

Simboli specifici del test:

Plate	Piastra per microtitolazione:
Diluent 1	Tampone di diluizione del campione
Wash	Tampone di lavaggio
Control +	Controllo positivo
Control -	Controllo negativo
Conjugate 1	Coniugato 1
Conjugate 2	Coniugato 2
Substrate	Substrato
Stop	Reagente bloccante

Letteratura

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)