

# RIDASCREEN<sup>®</sup> Astrovírus

Nº do artigo: C1301



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

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



## 1. Uso previsto

Para uso no diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Astrovírus é um ensaio imunoenzimático para a identificação qualitativa do astrovírus em amostras de fezes humanas.

## 2. Resumo e explicação do teste

A família *Astroviridae* foi descrita pela primeira vez por Appleton e Higgins em 1975. Com um microscópio eletrônico, Madeley e Cosgrove tornaram este vírus pequeno e redondo visível em amostras de fezes de crianças que tiveram diarreia, e deram seu nome de acordo com sua aparência em forma de estrela. Juntamente com a família *Caliciviridae* e vários outros vírus, ele é um dos chamados vírus de estrutura pequena circular (SRSV) que demonstram superfícies notavelmente estruturadas, em oposição ao grupo conhecido como vírus pequeno e redondo (SRV), que apresenta superfícies lisas não estruturadas. Entre outros, os SRV também incluem as famílias *Parvovirus* e *Picornavirus*.

O significado epidemiológico da gastroenterite causada pelo *astrovirus* foi muito mal compreendido durante os anos em que o uso do microscópio eletrônico foi a única maneira de detectar o vírus, bem como a frequência de infecções de astrovírus com diarreia ou diarreia combinada com vômito foi muito subestimada. Isto se deu em parte devido à sensibilidade relativamente baixa do microscópio eletrônico (ME), mas também porque nem sempre é possível diferenciar claramente as partículas SRV. A taxa de incidência baixa de 1% não correspondeu aos dados soropidemiológicos disponíveis, que indicou que até 70% das crianças mais velhas e adultos jovens carregavam anticorpos anti-astrovírus específicos.

Métodos mais recentes, como o imunoensaio enzimático, que é 10 a 100 vezes mais sensível do que o ME, e o método de reação em cadeia de polímero altamente sensível (PCR), com os limites de detecção até 102 partículas por amostra de fezes, têm cada vez mais mostrado a importância e a participação do astrovírus no diagnóstico diferencial dos casos de diarreia. Hoje em dia a incidência do astrovírus em casos de diarreia aguda varia de 2,5% a 10%, de modo que está na faixa de frequência conhecida por infecções por adenovírus (Tipo 40/41). Após as infecções por norovírus e rotavírus, o astrovírus é a terceira causa mais frequente de gastroenterite não-bacteriana.

Dos 8 sorotipos conhecidos hoje, são particularmente relevantes os sorotipos 1 a 5. A gastroenterite causada pelo astrovírus pode ocorrer em todas as idades, embora seja mais frequente em crianças e idosos. Surtos de infecção ocorrem com mais frequência em jardins de infância, escolas, hospitais e lares de idosos, mas a gastroenterite devido ao astrovírus também ocorre espontaneamente em ambiente militar e em grupos de viagem. É tão infeccioso quanto o rotavírus. A infecção é transmitida através de alimentos contaminados (ostras, em particular), por meio do fornecimento de água, e por via de transmissão fecal-oral.

O RIDASCREEN® Astrovírus ELISA emprega anticorpos altamente específicos para garantir uma identificação confiável de antígenos de astrovírus em amostras de fezes diluídas.

### 3. Princípio do teste

O teste de RIDASCREEN® Astrovírus utiliza anticorpos específicos em um método do tipo sanduíche. Anticorpos monoclonais para todos os serotipos de astrovírus conhecidos são revestidos à superfície dos poços da placa de micropoços. Usa-se uma pipeta para posicionar uma suspensão da amostra de fezes para ser examinada, bem como as amostras de controle no poço da placa de micropoços, juntamente com anticorpos anti-astrovírus monoclonais (Conjugado 1) para incubação à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Depois de uma etapa de lavagem, o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase (Conjugado 2) é adicionado e incubado novamente à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Com a presença de astrovírus em uma amostra de fezes, um complexo de sanduíche formará o que consiste em anticorpos imobilizados, os antígenos de astrovírus, e os anticorpos conjugados com o complexo biotina-estreptavidina-peroxidase. Outra etapa de lavagem remove o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase não ligado. Em amostras positivas, a adição de um substrato muda a enzima ligada, de uma solução incolor para uma solução azul. A adição de um reagente de parada muda a cor de azul para amarelo. A extinção é proporcional à concentração de astrovírus encontrados na amostra.

### 4. Reagentes fornecidos

Os reagentes do kit são suficientes para 96 determinações.

<b>Plate</b>	96 det.	Placa de micropoços, 12 tiras de micropoços (que podem ser divididas) no suporte para tiras; revestida com anticorpos monoclonais para anti-astrovírus.
<b>Diluent   1</b>	100 ml	Tampão de diluição de amostra, solução de NaCl tamponada com proteína, pronto para usar, cor azul
<b>Wash</b>	100 ml	Tampão de lavagem, solução de NaCl tamponada com fosfato (concentrada 10 vezes); contém 0,1% de timerosal
<b>Control   +</b>	2 ml	Controle positivo; cultura de astrovírus inativada; pronto para usar
<b>Control   -</b>	2 ml	Controle negativo (tampão de diluição da amostra); pronto para usar
<b>Conjugate   1</b>	13 ml	Anticorpos monoclonais para anti-astrovírus conjugados à biotina em uma solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor amarela
<b>Conjugate   2</b>	13 ml	Conjugado de estreptavidina poli-peroxidase em solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor laranja
<b>Substrate</b>	13 ml	Peróxido de hidrogênio/TMB; pronto para usar
<b>Stop</b>	12 ml	Reagente de parada; 1 N de ácido sulfúrico; pronto para usar

## 5. Reagentes e sua armazenagem

Todos os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C e podem ser usados até a data impressa na etiqueta. Desde que o tampão de lavagem seja armazenado a 2 - 8 °C, ele pode ser usado por, no máximo 4 semanas. Deve-se evitar a contaminação microbiana. Após a data de expiração, a garantia da qualidade já não é válida.

A bolsa de alumínio deve ser aberta com tesoura de forma que a vedação de grampo não seja rasgada. As tiras de micropoços que não forem necessárias devem ser recolocadas em uma bolsa de alumínio imediatamente e armazenadas a 2 - 8 °C.

O substrato incolor também deve ser protegido contra a luz solar direta, para impedir que se decomponha ou fique azul devido à auto-oxidação. Depois que o substrato fica azul, ele não pode mais ser utilizado.

## 6. Reagentes adicionais necessários – e equipamento necessário

### 6.1. Reagentes fornecidos

- Água destilada ou deionizada

### 6.2. Equipamento

- Tubos de ensaio
- Pipetas descartáveis (Artigo no: Z0001)
- Misturador de vórtice (opcional, consulte 9.3.)
- Micropipeta para volumes de 50 - 100 µl e 1 ml
- Cilindro de medição (1.000 ml)
- Cronômetro
- Dispositivo de lavagem para placas de micropoços ou pipetas multicanal (300 µl)
- Fotômetro para placas de micropoços (450 nm e filtro de referência de 620 - 650 nm)
- Papel filtro (toalhas para laboratório)
- Contêiner de resíduos com uma solução de 0,5% de hipoclorito

## 7. Precaução para os usuários

Apenas para *uso em diagnóstico* in vitro.

Este ensaio só deve ser realizado por profissionais de laboratório treinados. As diretrizes para trabalhar em laboratórios médicos devem ser seguidas. Sempre siga rigorosamente as instruções para os usuários referentes a este teste.

As amostras ou reagentes não devem ser pipetados com a boca, e o contato com a pele ferida ou com membranas mucosas deve ser evitado. Use equipamento de proteção pessoal (luvas adequadas, avental, óculos de segurança) ao manusear as amostras e lave as mãos depois de concluir o teste. Não fume, coma ou beba nas áreas onde amostras ou reagentes estão sendo processados.

Para ver mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança de Materiais (MSDS) em [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

O kit inclui um controle positivo que contém uma cultura de astrovírus inativada. Esta cultura deve ser tratada como material potencialmente infeccioso e manuseada de acordo com os regulamentos de segurança nacionais, assim como a amostra do paciente.

O tampão de lavagem contém 0,1% de timerosal como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou membranas mucosas.

Garanta o descarte adequado e responsável de todos os reagentes e materiais após o uso. Para o descarte, siga os regulamentos nacionais.

## **8. Coleta e armazenagem de amostras**

Até o momento da utilização, armazene o material de teste a 2 - 8 °C. Se não for possível usar o material para um teste dentro de três dias, recomendamos a armazenagem a -20 °C ou menos. Evite congelar e descongelar a amostra repetidamente.

As amostras de fezes e esfregaços fecais não devem ser coletadas em contêineres de transporte contendo meios conservantes, soros animais, íons metálicos, agentes oxidantes ou detergentes, já que podem interferir no Teste de Astrovírus RIDASCREEN®.

Se esfregaços retais forem utilizados, certifique-se de que o volume de material fecal seja suficiente (aprox. 100 mg) para o teste.

O rastreio do contato deve incluir o teste de amostras de fezes de pessoas de contato que não apresentam sintomas clínicos, para identificar portadores assintomáticos.

## **9. Procedimentos do teste**

### **9.1. Informações gerais**

Todos os reagentes e o micropoço **Plate** devem atingir a temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes do uso. As tiras de micropoços não devem ser removidas da bolsa de alumínio até atingir a temperatura ambiente. Os reagentes devem ser misturados totalmente imediatamente antes do uso. Depois do uso, as tiras de micropoços (colocadas em bolsas vedadas) e os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C. Depois de usadas, as tiras de micropoços não podem ser usadas novamente. Os reagentes e as tiras de micropoços não devem ser usados se a embalagem estiver danificada ou os frascos estiverem vazando.

Para evitar a contaminação cruzada, deve-se impedir que as amostras entrem em contato com os componentes do kit.

O teste não deve ser realizado sob luz solar direta. Recomendamos a cobertura da tira de micropoços ou o envolvimento em plástico para evitar perdas por evaporação.

## 9.2. Preparação do tampão de lavagem

Misture 1 parte de concentrado de tampão de lavagem **Wash** com 9 partes de água destilada. Quaisquer cristais presentes no concentrado deverão ser dissolvidos previamente aquecendo em banho-maria a 37 °C.

## 9.3. Preparação das amostras

Encha um tubo de ensaio com 1 ml de **Diluent | 1** tampão de diluição da amostra RIDASCREEN®. Use uma pipeta descartável (artigo no Z0001) para sugar uma amostra fina de fezes (aprox. 100 µl) até um ponto logo acima da segunda marcação e adicione ao tampão no tubo de ensaio para fazer uma suspensão. No caso de amostras de fezes sólidas, adicione uma quantidade equivalente da amostra de fezes (aprox. 50-100 mg) com uma espátula ou uma ansa de inoculação descartável e suspenda.

Homogeneíze a suspensão de fezes por sucção e ejeção com uma pipeta ou, como alternativa, misture com um misturador Vortex. Deixe a suspensão descansar por um breve período (10 minutos) para que as partículas grossas de fezes assentem, e esse sobrenadante clarificado da suspensão de fezes pode ser usado diretamente no teste. Caso o procedimento do teste seja realizado em um sistema ELISA automatizado, o sobrenadante deve obrigatoriamente estar livre de partículas. Nesse caso, é recomendável centrifugar a amostra a 2.500 G durante 5 minutos.

Obs.:

Amostras de fezes diluídas em **Diluent | 1** podem ser testadas em todo o RIDASCREEN® ELISA para o qual o **Diluent | 1** é utilizado.

## 9.4. Primeira incubação

Depois de inserir um número suficiente de poços no suporte para tiras, use uma pipeta para adicionar 100 µl do positivo **Control | +**, do negativo **Control | -**, ou da suspensão da amostra das fezes aos poços. Em seguida, adicione 100 µl do anticorpo conjugado à biotina **Conjugate | 1** e misture (batendo levemente no lado da placa); depois, incube por 60 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

## 9.5. Lavagem

Lavar cuidadosamente é importante para a obtenção de resultados corretos. Portanto, siga rigorosamente as instruções. A substância incubada nos poços deve ser esvaziada em um contêiner de resíduos para o descarte de acordo com os regulamentos locais. Depois disso, deite a placa em um papel absorvente para remover a umidade residual. Em seguida, lave a placa cinco vezes usando 300 µl de tampão de lavagem em cada vez. Certifique-se de que os poços sejam totalmente esvaziados, deitando-os, após cada lavagem, em uma parte do papel absorvente que ainda esteja seca e não tenha sido usada.

Se você usa uma lavadora de microplacas ou um ELISA totalmente automatizado, certifique se

de que a máquina esteja ajustada corretamente; se necessário, solicite os ajustes do fabricante. Os aparelhos fornecidos pela R-Biopharm já estão programados com ajustes e protocolos de controle validados. Para evitar o entupimento das agulhas de lavagem, entregue somente suspensões de fezes livres de partícula (consulte o Item 9.3., Preparação das amostras). Além disso, certifique-se de que todo o líquido seja aspirado durante cada etapa de lavagem.

#### 9.6. Segunda incubação

Use uma pipeta para colocar 100 µl de conjugado de estreptavidina poli-peroxidase **Conjugate 2** nos poços e, em seguida, incube durante 30 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

#### 9.7. Lavagem

Lave conforme o descrito no Item 9.5.

#### 9.8. Terceira incubação

Encha todos os poços com 100 µl de substrato **Substrate**. Incube a placa por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Em seguida, coloque 50 µl de reagente de parada em todos os poços **Stop** fim de parar a reação. Depois de misturar cuidadosamente ao bater ligeiramente no lado da placa, meça a extinção a 450 nm (opcional: 450/620 nm). Ajuste o ponto zero no ar, ou seja, sem a placa de micropoços.

Obs.:

Amostras altamente positivas de pacientes podem provocar precipitados de cor preta do substrato.

### 10. Controle de qualidade - indicações da expiração do reagente

Para fins de controle de qualidade, controles positivos e negativos devem ser usados cada vez que o teste é realizado, para garantir que os reagentes estejam estáveis e que o teste seja realizado corretamente. O teste foi realizado corretamente se a taxa de extinção (O. D.) do controle negativo é inferior a 0,2 a 450 nm (inferior a 0,160 a 450/620 nm) e o valor medido para o controle positivo é maior que 0,8 a 450 nm ou a 450/620 nm. Um valor superior a 0,2 (0,160) para o controle negativo pode indicar que a lavagem foi insuficiente. O desvio dos valores exigidos, bem como uma coloração turva ou azul do substrato incolor antes que seja colocado nos poços pode indicar que os reagentes expiraram.

Se os valores estipulados não forem obtidos, verifique os pontos a seguir antes de repetir o teste:

- Data de expiração dos reagentes usados
- Funcionalidade do equipamento que está sendo usado (por exemplo: calibragem)
- Procedimento de teste correto

– Inspeção visual dos componentes do kit à procura de contaminação ou vazamentos - a solução de substrato que se torna azulada não deve ser usada.

Se mesmo assim as condições não forem preenchidas após a repetição do teste, consulte o fabricante ou o distribuidor local da R-Biopharm.

## **11. Avaliação e interpretação**

### 11.1. Cálculo do corte

Para estabelecer o corte, 0,15 unidade de extinção é adicionada à extinção medida para o controle negativo.

$$\text{Corte} = \text{extinção para o controle negativo} + 0,15$$

### 11.2. Resultados do teste

A avaliação da amostra é positiva se a taxa de extinção é mais do que 10% superior ao valor de corte calculado.

A avaliação da amostra é marginal se a taxa de extinção varia entre 10% menor e 10% maior que o valor de corte. Se a repetição do exame com uma nova amostra de fezes fica novamente na zona cinza, a avaliação da amostra é negativa.

Amostras com extinções mais de 10% abaixo do corte calculado devem ser consideradas negativas.

## **12. Limitações do método**

O Teste RIDASCREEN® Astrovírus identifica antígenos do astrovírus em amostras de fezes. Não é possível associar o nível determinado de extinção à ocorrência ou gravidade dos sintomas clínicos. Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.

Um resultado positivo não descarta a presença de outros patógenos infecciosos.

Um resultado negativo não descarta a possibilidade de infecção por astrovírus. Um resultado desse tipo pode ocorrer devido à excreção intermitente do vírus ou à quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se histórico do paciente respalda a suspeita de infecção por astrovírus, deve-se repetir o exame com outra amostra de fezes.

Um resultado marginal pode ser causado pela distribuição não homogênea de vírus na amostra de fezes. Nesse caso, o exame deve ser repetido com uma segunda suspensão da mesma amostra ou outra amostra de fezes deve ser solicitada.

### 13. Características de desempenho

#### 13.1. Qualidade do teste

Um estudo de validação retrospectivo com o RIDASCREEN® Astrovírus ELISA examinou 92 amostras de fezes. As amostras foram homogeneizadas e submetidas a exame comparativo entre o RIDASCREEN® Astrovírus ELISA e outro teste ELISA comercial. Os resultados desse exame estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Correlação entre o RIDASCREEN® Astrovírus ELISA e outro teste ELISA comercial

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

Correspondência positiva: 100 %

Correspondência negativa: 100 %

#### 13.2. Reatividade cruzada

Uma série de micro-organismos do trato intestinal foram examinados com o RIDASCREEN® Astrovírus ELISA e não apresentaram reatividade cruzada. Esses estudos foram realizados com suspensões bacterianas que apresentaram concentrações de  $10^6$  a  $10^9$  organismos por ml. Sobrenadantes de cultura viral estão adequadamente listados. Os resultados desse estudo estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2: Reatividade cruzada com micro-organismos patogênicos

Patógenos de teste	Origem	Valor médio [OD450/620]
Adenovirus	Sobrenadante de cultura celular	0.032
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultura	0.023
<i>Bacillus cereus</i>	Cultura	0.054
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultura	0.034
<i>Campylobacter coli</i>	Cultura	0.039
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	0.031
<i>Candida albicans</i>	Cultura	0.049
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultura	0.028
<i>Clostridium difficile</i>	Cultura	0.032
<i>Clostridium perfringens</i>	Cultura	0.031
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultura	0.033
<i>Cryptosporidium muris</i>	Cultura	0.025
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	0.026
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Cultura	0.035
<i>E. coli</i> (O6)	Cultura	0.030

<i>E. coli</i> (O157:H7)	Cultura	0.039
<i>Entamoeba histolytica</i>	Cultura	0.045
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	0.028
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	0.033
<i>Giardia lamblia</i>	Cultura	0.032
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultura	0.035
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultura	0.035
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	0.035
Rotavirus	Sobrenadante de cultura celular	0.029
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	0.030
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultura	0.033
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultura	0.022
<i>Shigella flexneri</i>	Cultura	0.024
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	0.054
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultura	0.035
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultura	0.030
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultura	0.031

### 13.3. Precisão

A reprodutibilidade do RIDASCREEN® Astrovírus ELISA foi testada com seis referências, representando a faixa de medição completa de negativo ao alto positivo. Para determinar a reprodutibilidade entre ensaios, 40 réplicas dessas referências foram testadas. Os valores médios e os coeficientes de variação (CV) foram determinados para três lotes dos kits. Para a reprodutibilidade interensaios, as referências foram testadas em duplicatas num total de 20 séries, durante vários dias. As medições foram determinadas utilizando três lotes por três técnicos. Para a reprodutibilidade inter-lote foram combinados resultados de todos os três lotes. Os resultados desse estudo estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Reprodutibilidade e precisão do RIDASCREEN® Astrovírus ELISA

Referências Valor médio / VC		Intraensaio			Interensaio			Interlote
		Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lotes 1-3 do kit
1	MV	2.447	2.146	1.694	1.682	1.655	1.808	1.715
	CV (%)	<b>4.74 %</b>	<b>6.62 %</b>	<b>4.25 %</b>	<b>10.55 %</b>	<b>9.38 %</b>	<b>9.11 %</b>	<b>10.62 %</b>
2	MV	1.879	1.596	1.285	1.254	1.223	1.350	1.275
	CV (%)	<b>5.75 %</b>	<b>6.71 %</b>	<b>5.99 %</b>	<b>8.62 %</b>	<b>10.50 %</b>	<b>9.64 %</b>	<b>10.76 %</b>
3	MV	1.094	0.884	0.776	0.738	0.708	0.798	0.748
	CV (%)	<b>6.40 %</b>	<b>7.04 %</b>	<b>8.21 %</b>	<b>12.80 %</b>	<b>11.19 %</b>	<b>12.75 %</b>	<b>13.56 %</b>
4	MV	0.746	0.602	0.523	0.560	0.528	0.589	0.559
	CV (%)	<b>5.89 %</b>	<b>7.79 %</b>	<b>8.89 %</b>	<b>14.83 %</b>	<b>14.84 %</b>	<b>15.45 %</b>	<b>15.69 %</b>

5	MV	0.370	0.281	0.356	0.275	0.252	0.279	0.269
	CV (%)	<b>15.97 %</b>	<b>12.41 %</b>	<b>15.12 %</b>	<b>12.59 %</b>	<b>15.04 %</b>	<b>13.81 %</b>	<b>14.59 %</b>
6	MV	0.040	0.018	0.065	0.033	0.022	0.020	0.025
	CV (%)	<b>n/a</b>						

#### 13.4. Sensibilidade analítica

Para determinar a sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Astrovírus ELISA foi estabelecido o LoB (*Limit of Blank* - Limite de Vazios) através de 90 medições de amostras negativas. Subsequentemente, o LoD (*Limit of Detection* - Limite de Detecção) foi determinado através de 30 medições de um lisado de células que haviam sido infectadas pelo astrovírus. Os resultados dessas medições estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados da determinação da sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Astrovírus ELISA

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

#### 14. Substâncias interferentes

A seguinte lista de substâncias não mostrou efeitos nos resultados dos testes quando foram misturadas em amostras de fezes positivas para astrovírus e amostras de fezes negativas para astrovírus nas concentrações descritas: sulfato de bário (18,5% p/p), loperamida (0,02% p/p), ciclamato / sacarina (1,3% p/p), sangue humano (5,0% v/p), metronidazol (3,0% v/p), diclofenaco (0,1% v/p).

O Pepto-Bismol, as mucinas, o ácido esteárico e o ácido palmítico podem levar à redução de extinções.

## Apêndice

Símbolos específicos do teste:

Plate	Placa de micropoços
Diluent   1	Tampão de diluição da amostra
Wash	Tampão de lavagem
Control   +	Controle positivo
Control   -	Controle negativo
Conjugate   1	Conjugado 1
Conjugate   2	Conjugado 2
Substrate	Substrato
Stop	Reagente de parada

## Bibliografia

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)