

IMAGEN™

PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 AND 3

REF K610311-2 K610411-2	50 50	FR
---	---------------------------------------	---------------

Test pour la détection des Virus **Parainfluenza 1, 2 et 3** par immunofluorescence directe.

1. UTILISATION PREVUE

Les kits **IMAGEN™ Parainfluenza** sont des tests d'immunofluorescence directe qualitative pour la détection et la différenciation des virus Parainfluenza de type 1, 2 et 3 dans les aspirations nasopharyngées ou en cultures cellulaires. Les kits sont disponibles sous deux formes.

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Code K6103) pour la détection et la confirmation de la présence d'antigènes du virus Parainfluenza dans les aspirations nasopharyngées et en cultures cellulaires.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (Code K6104) pour la détection et la différenciation sélective des types 1, 2 et 3 du virus Parainfluenza dans les aspirations nasopharyngées et en cultures cellulaires.

Il est recommandé de confirmer la négativité d'un résultat en recherche directe sur aspirations nasopharyngées par une mise en culture du prélèvement.

2. RESUME

Les virus Parainfluenza appartiennent au genre Paramyxovirus classé dans la famille des Paramyxoviridae.¹ Il y a 6 types de virus Paramyxovirus connus qui infectent l'homme, dont les virus Parainfluenza 1, 2, 3 et 4 (sous-types 4a et 4b), le Myxovirus parotidis et le virus de la maladie de Newcastle. Parmi les 4 virus Parainfluenza, les types 1, 2, et 3 sont reconnus aujourd'hui comme étant l'une des causes majeures de l'apparition de maladies respiratoires aiguës chez les nourrissons et les enfants.^{2,3}

Les virus Parainfluenza se propagent par contact direct ou par inhalation de gouttelettes infectées provenant de l'appareil respiratoire d'individus symptomatiques. Les sécrétions nasales peuvent contenir une concentration élevée de virus. Le virus se multiplie dans les cellules épithéliales prismatiques ciliées de l'appareil respiratoire supérieur et inférieur causant la nécrose et la mue des cellules. La charge virale s'effectue de 1 jour avant à 7 jours après l'apparition des symptômes. Cette réplication peut persister chez les patients immunodéprimés.^{4,5}

Les virus Parainfluenza de types 1, 2 et 3 peuvent infecter et provoquer une pathologie de la totalité de l'appareil respiratoire supérieur et inférieur. La plupart des infections virales à virus Parainfluenza se manifestent cliniquement sous forme de laryngo-trachéo-bronchites aiguës (croup) chez les nourrissons et les enfants. Cependant, les infections à virus Parainfluenza sont aussi associées aux trachéo-bronchites, aux bronchites, aux pneumonies et à une série de symptômes affectant l'appareil respiratoire supérieur.

Les infections à virus Parainfluenza peuvent être occasionnellement graves chez les nourrissons, provoquant l'obstruction des voies

aériennes et une détresse respiratoire, lesquelles peuvent mener à un accroissement de la morbidité et de la mortalité chez des patients souffrant d'une maladie sous-jacente comme la mucoviscidose, ou chez des patients immunodéprimés.

Les virus Parainfluenza ont été associés à l'éclosion d'infections de l'appareil respiratoire dans les services de pédiatrie et de gériatrie, provoquant une hospitalisation prolongée et une augmentation du taux de morbidité et de mortalité.⁶ Un diagnostic rapide est important dans le traitement des patients et le contrôle des premières manifestations de la maladie.

Actuellement, les principales méthodes de diagnostic des infections dues aux virus Parainfluenza sont soit l'isolement et l'identification en monocouches de cultures cellulaires, soit la détection directe du virus dans des échantillons cliniques.

Après isolement du virus par culture cellulaire, il est nécessaire, pour identifier le virus, de procéder à une analyse supplémentaire, à une neutralisation, à une réaction d'inhibition de l'hémoagglutination ou à un examen au microscope électronique. Ces tests sont difficiles et longs et exigent un degré de compétence technique élevé. Ils peuvent donc ne pas être à la portée de beaucoup de laboratoires.

Plus récemment, on a décrit des tests d'immunofluorescence indirecte qui utilisent des anticorps polyclonaux ou monoclonaux pour identifier et confirmer la présence des virus Parainfluenza en monocouches de cultures cellulaires ou directement sur des spécimens cliniques.^{7,8,9} Les tests par immunofluorescence directe utilisant des anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine offrent une méthode plus rapide et plus spécifique pour la détection des virus dans les spécimens cliniques ou les cultures cellulaires.

Les kits IMAGEN Parainfluenza sont des tests d'immunofluorescence directe destinés à la détection et à l'identification des virus Parainfluenza de type 1, 2 et 3 directement dans les aspirations nasopharyngées ou les cultures cellulaires. Ces tests utilisent des anticorps monoclonaux spécifiques pour détecter et identifier les virus Parainfluenza de type 1, 2 et 3.

3. PRINCIPE DU TEST

Les kits IMAGEN Parainfluenza virus contiennent de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) conjugué à des anticorps monoclonaux qui se lient spécifiquement à l'un des types 1, 2, ou 3 du virus Parainfluenza. Ceux-ci sont utilisés en technique d'immunofluorescence directe. Les spécimens sont incubés avec les réactifs conjugués au FITC pendant 15 minutes. L'excès de réactif est ensuite éliminé par lavage à l'aide d'un tampon phosphate en solution saline (PBS). L'observation s'effectue après montage des spécimens colorés au moyen d'un éclairage par épifluorescence. Si les types 1, 2 ou 3 du virus Parainfluenza sont présents, ils sont signalés par une fluorescence intracellulaire vert pomme caractéristique des cellules infectées, et qui contraste avec la contre-coloration rouge des cellules non-infectées.

Remerciements

Les anticorps monoclonaux utilisés dans ces test ont été produits par le Department of Respiratory and Enteric Viruses, Public Health Services, Centre for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.

4. DEFINITIONS

Les symboles suivants sont utilisés dans l'ensemble des informations relatives au produit.

REF	Référence du catalogue
i	Consulter les instructions d'utilisation
N	Contenu suffisant pour <N> tests
	Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>In vitro</i>
	Utiliser jusque
LOT	Code du Lot
°C	Limites de température

5. REACTIFS FOURNIS

50

 50 - Chaque kit contient suffisamment de réactifs pour traiter 50 préparations de cultures cellulaires.

- La date de péremption du kit est indiquée sur l'étiquette extérieure de la boîte.

5.1. REACTIFS IMAGEN PARAINFLUENZA FOURNIS

i	instructions d'utilisation
POSITIVE CONTROL SLIDE	2 x 3 lames clairement positives contenant des cellules rénales (Veros) de singe vert fixées dans l'acétone et infectées par le virus Parainfluenza de type 1, 2 ou 3 (souches CDC V6-004, CDC V7-003 et CDC V5-003 respectivement).
MOUNTING FLUID	3mL de liquide de montage. Le liquide de montage contient un inhibiteur de blanchissage optique dans une solution de glycérol (pH 10,0).

Un flacon de chacun des produits suivants:

IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS GROUP REAGENTS – K6103

REAGENT G	1,4mL de réactif IMAGEN Parainfluenza pour les virus des types 1, 2 et 3. Ce réactif consiste en un mélange de 3 anticorps monoclonaux murins purifiés, spécifiques des types 1, 2 et 3 du virus Parainfluenza, conjugué au FITC et dilué dans une solution de protéines stabilisée par un tampon phosphate en solution saline contenant du bleu Evans comme contre-colorant. Les anticorps monoclonaux sont dirigés contre la protéine F du Parainfluenza de type 1, la protéine de l'hémoagglutinine du Parainfluenza de type 2 et la protéine de l'hémoagglutinine du Parainfluenza de type 3, respectivement
---------------------------------	--

OU

IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 AND 3 REAGENTS – K6104

REAGENT 1	1,4mL de réactif IMAGEN Parainfluenza pour la détection du virus du type 1. Ce réactif consiste en un anticorps monoclonal murin purifié, spécifique du virus Parainfluenza
---------------------------------	---

du type 1 (dirigé contre la protéine F du Parainfluenza de type 1), conjugué au FITC et dilué dans une solution de protéines stabilisée par un tampon phosphate en solution saline contenant du bleu Evans comme contre-colorant.

REAGENT 2	1,4mL de réactif IMAGEN Parainfluenza pour la détection du virus du type 2. Ce réactif consiste en un anticorps monoclonal murin purifié spécifique du virus Parainfluenza du type 2 (dirigé contre la protéine de l'hémoagglutinine du Parainfluenza de type 2), conjugué au FITC et dilué dans une solution de protéines stabilisée par un tampon phosphate en solution saline contenant du bleu Evans comme contre-colorant.
---------------------------------	---

REAGENT 3	1,4mL de réactif IMAGEN Parainfluenza pour la détection du virus du type 3. Ce réactif consiste en un anticorps monoclonal murin purifié spécifique du virus Parainfluenza du type 3 (dirigé contre la protéine de l'hémoagglutinine du Parainfluenza de type 3), conjugué au FITC et dilué dans une solution de protéines stabilisée par un tampon phosphate en solution saline contenant du bleu Evans comme contre-colorant.
---------------------------------	---

5.2. PREPARATION, STOCKAGE ET REUTILISATION DES COMPOSANTS DU KIT

Pour des performances optimales, il convient de stocker tous les composants du kit inutilisés en respectant les consignes données.

5.3. LAMES DE CONTROLE POSITIF - POSITIVE CONTROL SLIDE

Les lames de contrôle positif sont fournies dans un emballage individuel sous atmosphère d'azote. Conserver les lames inutilisées à une température comprise entre 2 et 8°C. Avant d'ouvrir l'emballage, laisser les lames emballées séjourner 5 minutes à température ambiante (15 à 30°C).

Procéder à la coloration des lames immédiatement après les avoir sorties de leur emballage.

5.4. LIQUIDE DE MONTAGE - MOUNTING FLUID

Prêt à l'emploi. Conserver le liquide de montage inutilisé à une température comprise entre 2 et 8°C. Laisser le liquide de montage séjourner 5 minutes à température ambiante (15 à 30°C) avant de l'utiliser.

5.5. REACTIFS, GROUPE 1, 2 ET 3 - REAGENT G/REAGENT 1/REAGENT 2/REAGENT 3

Prêts à l'emploi. Conserver les réactifs inutilisés à l'abri de la lumière à une température comprise entre 2 et 8°C. Laisser ces réactifs séjourner 5 minutes à température ambiante (15 à 30°C) avant de les utiliser.

6. REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

6.1. REACTIFS

Acétone frais (pour la fixation).

Tampon phosphate en solution saline (PBS), pH 7,5, pour le lavage des échantillons marqués et la préparation des échantillons.

6.2. ACCESSOIRES

Les produits suivants doivent être utilisés avec les réactifs K6103 et K6104. Pour toute information complémentaire, veuillez

contacter votre distributeur local(e)

Lames pour microscope en verre recouvertes de téflon avec un seul puits de 6mm de diamètre (100 lames par boîte) disponibles auprès de votre distributeur régional (Code S6114).

Lames de contrôle positif (Code S6111).

7. MATERIEL

Le matériel suivant est nécessaire:

Pipette de précision et embouts jetables de 25µL.

Bain de lavage.

Lamelles couvre objet pour puits de 6mm de diamètre.

Huile d’immersion non fluorescente.

Microscope épifluorescent avec système de filtre pour FITC (longueur d’ondes d’excitation maximale 490nm, longueur d’onde d’émission moyenne 520nm) et lentilles pour amplification x200-x500.

Incubateur à 37°C.

Centrifugeuse de paillasse.

Pour les spécimens directs

Extracteur de mucus.

Pour la confirmation en culture

Ecouvillons stériles, milieu de transport viral (VTM) et récipient approprié pour le prélèvement, le transport et la culture des virus Parainfluenza.

Pour de plus amples informations sur l’utilisation d’un milieu de transport viral, veuillez consulter la référence 13 de la Section 13 (disponible auprès de votre filiale Oxoid).

Lignées de cultures cellulaires recommandées pour la culture et l’isolement des virus Parainfluenza.

Une lame de contrôle négatif préparée à partir de cellules intactes non contaminées du même type que celles utilisées pour la culture et l’isolement des virus Parainfluenza. Les cellules doivent être préparées et fixées comme indiqué à la Section 7.1 et marquées comme indiqué à la Section 8.

8. PRECAUTIONS D’EMPLOI

IVD - Pour usage diagnostique *in vitro*. L'utilisateur doit maîtriser les procédures générales de laboratoire et être spécifiquement formé pour l'emploi de ce test.

8.1. MESURES DE SECURITE

- 8.1.1 Les réactifs du test IMAGEN Parainfluenza contiennent <0.1% d’azide de sodium, un toxique. L’azide de sodium est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l’élimination des réactifs, rincer avec de grandes quantités d’eau pour éviter l’accumulation d’azides métalliques dans les vidanges.
- 8.1.2 Les virus Parainfluenza des lames de contrôle se sont révélés non infectieux lors de la culture cellulaire. Toutefois, il convient de les manipuler et de les éliminer comme des lames susceptibles d’être infectieuses.
- 8.1.3 Présence de bleu Evans dans le réactif. Bien que le produit soit en concentrations inférieures à celles qui requièrent qu’on le classe comme cancérogène, éviter tout contact avec la peau.

- 8.1.4 Mounting Fluid contient un produit irritant pour la peau : des précautions particulières doivent donc être prises lors de son utilisation. Bien que le produit soit en concentrations inférieures à celles qui requièrent qu’on le classe comme irritant, rincer la peau sous l’eau en cas de contact.
- 8.1.5 Ne pas manger, boire, fumer, conserver ou préparer de la nourriture, ni utiliser des cosmétiques dans les lieux d’utilisation.
- 8.1.6 Ne pas pipeter avec la bouche.
- 8.1.7 Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons cliniques et des cellules infectées, et toujours se laver les mains après avoir utilisé des substances infectieuses.
- 8.1.8 Eliminer tous les spécimens cliniques conformément aux réglementations locales en vigueur.
- 8.1.9 Fixe toxicologique disponible pour les utilisateurs professionnels, sur demande.

8.2. PRECAUTIONS TECHNIQUES

- 8.2.1 Ne pas utiliser les composants après la date d’expiration imprimée sur les étiquettes. Ne pas mélanger ni intervertir différents lots de réactifs.
- 8.2.2 Les réactifs sont fournis à des concentrations dosées fixes. Les performances du test seront altérées si les réactifs sont modifiés ou stockés dans des conditions autres que celles décrites dans la Section 5.
- 8.2.3 Les réactifs de typage ne doivent pas être mélangés, ni utilisés ensemble dans un même puits. La sensibilité du test risquerait d’en être affectée négativement.
- 8.2.4 Préparer uniquement la quantité de tampon phosphate en solution saline (PBS) nécessaire pour un jour.
- 8.2.5 Le lavage dans du PBS est nécessaire. L’utilisation d’autres solutions lavantes, comme de l’eau du robinet ou de l’eau distillée, compromettrait les résultats du test.
- 8.2.6 Eviter toute contamination microbienne des réactifs.
- 8.2.7 Ne pas congeler les réactifs.

9. PRÉLÈVEMENT ET LA PRÉPARATION

Le prélèvement et la préparation des spécimens revêtent une importance primordiale dans le diagnostic du virus Parainfluenza par culture cellulaire. Il convient de prélever les spécimens sur le site de l’infection au plus fort de la réplication virale afin qu’ils contiennent autant de substances infectées que possible. Il est conseillé d’utiliser, comme échantillon respiratoire, un spécimen nasopharyngien prélevé par aspiration (NPA) qui devrait comporter un grand nombre de cellules épithéliales respiratoires.

9.1. Echantillons Cliniques

9.1.1 Aspirations nasopharyngées

Prélèvement

Prélever des spécimens dans le nasopharynx en utilisant une sonde nasale numéro 8 connectée à un extracteur à mucus. L’extracteur à mucus et la sonde devront être maintenus à une température comprise entre 2 et 8°C, et être envoyés au laboratoire le plus rapidement possible pour procéder à l’analyse.

Séparation des cellules

Ajouter, le cas échéant, 2mL de tampon phosphate en solution saline (PBS) à l’échantillon avant la centrifugation pour réduire la viscosité et diluer le mucus. Centrifuger l’extracteur à mucus à température ambiante (15 à 30°C) pendant 10 minutes à

380g. Retirer le surnageant qui peut être utilisé pour la culture cellulaire. Remettre en suspension le culot de centrifugation dans 2mL de PBS.

Aspirer doucement avec une pipette large et rejeter plusieurs fois, ou bien agiter doucement au vortex jusqu’à dissolution du mucus et libération des éléments cellulaires. Il conviendra d’utiliser la pipette/le vortex avec précaution pour éviter d’endommager les cellules. Lorsque vous aurez obtenu une suspension lisse, ajoutez du PBS si nécessaire, et utilisez la pipette ou le vortex de la même manière pour mieux laver les cellules. Retirer et jeter les traces de mucus visibles restantes. L’excédent de mucus doit être retiré car il peut empêcher la bonne pénétration du réactif et entraîner une fluorescence non spécifique.

Si toutes les sécrétions restent dans la sonde et qu’aucune ne parvient dans l’extracteur à mucus, laver la sonde pour en retirer toutes les sécrétions avec du PBS. Vous pouvez utiliser une pipette pasteur placée au bout de la sonde qui était reliée à l’extracteur de mucus.

Aspirer le fluide voulu dans la sonde et l’éjecter plusieurs fois jusqu’à ce que les sécrétions collées aux parois de la sonde se détachent. Servez-vous encore une fois de la pipette de la même manière pour aspirer et rejeter la suspension épaisse obtenue jusqu’à ce que le mucus soit dissous.

Préparation des lames

Centrifuger la suspension de cellules obtenue à température ambiante (15 à 30°C) pendant 10 minutes à 380g, et jeter le surnageant. Remettre en suspension le culot de centrifugation dans suffisamment de PBS pour diluer le mucus restant tout en maintenant en même temps une haute densité cellulaire. Placer 25µL du culot de centrifugation remis en suspension dans le puits d’une lame.

Un puits sera nécessaire pour le test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Code K6103). Trois puits seront nécessaires pour le test IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (Code K6104).

Laisser sécher l’échantillon à l’air libre à température ambiante (15 à 30°C) et fixer à l’acétone frais à température ambiante (15 à 30°C) pendant 10 minutes. Si l’échantillon n’est pas testé immédiatement, congeler la lame à -70°C. Les lames ainsi conservées devront être testées dans un délai de deux semaines après la préparation pour éviter toute détérioration.

9.2. CONFIRMATION ET TYPAGE PAR CULTURE CELLULAIRE

Inoculation des cultures cellulaires

Les échantillons prélevés en vue du diagnostic d’infections dues aux virus Parainfluenza doivent être inoculés dans les lignées cellulaires habituellement utilisées par le laboratoire selon les méthodes établies du laboratoire.

Les cultures cellulaires doivent être examinées régulièrement pour détecter l’apparition d’un effet cytopathogène (CPE), et les tests d’hémadsorption doivent être effectués à intervalles réguliers. Toute culture cellulaire dont l’hémadsorption est positive, ou faisant apparaître un effet cythopathogène, peut être recueillie et analysée pour détecter la présence des virus Parainfluenza.

Préparation des lames

Gratter la couche de cellules dans le milieu de culture en utilisant une pipette stérile.

Déposer les cellules par centrifugation à 200g pendant 10 minutes à température ambiante (15 à 30°C), et enlever le surnageant.

Laver les cellules par remise en suspension du précipité de cellules dans un tampon phosphate en solution saline (PBS) et répéter la centrifugation. Enlever le surnageant et remettre en suspension le précipité de cellules dans un petit volume (75 à 100µL par tube de culture) de PBS frais pour maintenir une haute densité de cellules.

Déposer 25µL d’aliquote de suspension de cellules dans les puits des lames.

Un puits est nécessaire pour le test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Code K6103).

Trois puits sont nécessaires pour le test IMAGEN Parainfluenza virus (Code K6104).

Laisser sécher complètement à l’air libre et à température ambiante (15 à 30°C) et fixer dans de l’acétone frais à température ambiante (15 à 30°C) pendant 10 minutes. Si le marquage de l’échantillon n’est pas réalisé immédiatement, il est possible de conserver l’échantillon une nuit à 4°C ou de le congeler à -20°C si la période de conservation risque d’être plus longue. Les lames stockées doivent être testées dans les 2 semaines suivant leur préparation car une détérioration surviendrait en cas de conservation prolongée.

10. MODE OPERATOIRE

VEUILLEZ CONSULTER LA SECTION 8.2, PRECAUTIONS TECHNIQUES, AVANT DE REALISER LE TEST.

Pour connaître la procédure du test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Code K6103), consulter la section 10.1. Pour connaître la procédure du test IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (Code K6104), consulter la section 10.2.

10.1. IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS GROUP - K6103

10.1.1 Ajout du réactif

Ajouter 25µL de Réactif G sur la préparation de cellules fixées (voir section 9.1), sur les lames de contrôles positif et négatif en prenant soin que le réactif recouvre toute la surface du puits.

10.1.2 Première incubation

Incuber les lames contenant le réactif pendant **15 minutes à 37°C dans une chambre humide**. Ne pas laisser sécher le réactif sur l’échantillon (cela provoque l’apparition d’une coloration non spécifique).

10.1.3 Lavage de la lame

Eliminer l’excès de réactif par lavage avec le tampon phosphate en solution saline (PBS), puis laver la lame avec précaution dans un bain à agitation contenant du PBS pendant 5 minutes. Eliminer le PBS et laisser sécher la lame à l’air libre et à température ambiante (15 à 30°C).

10.1.4 Ajout de liquide de montage

Ajouter une goutte de liquide de montage au centre de chaque puits et recouvrir d’une lamelle couvre objet pour éviter la formation de bulles d’air.

10.1.5 Lecture de la lame

Examiner dans son ensemble la surface du puits contenant l’échantillon marqué, au moyen d’un microscope à épifluorescence. Comme indiqué à la Section 11, une amplification de x200 x500 permet de visualiser la fluorescence. Pour obtenir des résultats optimaux, les lames doivent en principe être examinées immédiatement après le marquage, mais elles peuvent être

conservées entre 2 et 8°C, à l’abri de la lumière, pendant 72 heures au maximum.

10.2. IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 AND 3 - K6104

10.2.1 Ajout du réactif

Déposer 25µL de Réactif 1 sur le premier puits, 25µL de Réactif 2 sur le deuxième puits et 25µL de Réactif 3 sur le troisième puits contenant les cellules fixées (voir Section 9.1) et sur les lames de contrôles positif et négatif. Vérifier que le réactif recouvre toute la surface du puits.

Il est recommandé d’utiliser 25µL de réactif pour recouvrir un puits. Toute réduction de volume pourra diminuer la sensibilité du test.

10.2.2 Première incubation

Incuber les lames contenant le réactif pendant **15 minutes à 37°C dans une chambre humide. Ne pas** laisser sécher le réactif sur l’échantillon (cela provoque l’apparition d’une coloration non spécifique).

10.2.3 Lavage de la lame

Éliminer l’excès de réactif par lavage avec le tampon phosphate en solution saline (PBS), puis laver la lame avec précaution dans un bain à agitation contenant du PBS pendant 5 minutes. Éliminer le PBS et laisser sécher la lame à l’air libre et à température ambiante (15 à 30°C).

10.2.4 Ajout de liquide de montage

Ajouter une goutte de liquide de montage au centre de chaque puits et recouvrir d’une lamelle couvre objet pour éviter la formation de bulles d’air.

10.2.5 Lecture de la lame

Examiner dans son ensemble le puits contenant l’échantillon marqué, au moyen d’un microscope à épifluorescence. Comme indiqué à la Section 11, une amplification de x200 x500 permet de visualiser la fluorescence. Pour obtenir des résultats optimaux, les lames doivent en principe être examinées immédiatement après le marquage, mais elles peuvent être conservées entre 2 et 8°C, à l’abri de la lumière, pendant 72 heures au maximum.

11. INTERPRETATION DES RESULTATS DES TESTS

11.1. CONTROLES

11.1.1 Lame de contrôle positif

Une fois traitée et examinée conformément aux instructions de la Section 10, la lame de contrôle positive doit présenter des cellules rouges avec une fluorescence intracellulaire, nucléaire et/ou cytoplasmique vert pomme, contrastant avec la couleur du contre-colorant. Les lames de contrôle positif doivent servir à vérifier que la procédure de marquage a été réalisée correctement.

Ces lames sont préparées à partir de souches de virus Parainfluenza en culture cellulaire. Elles permettent de contrôler si la procédure du test est bien respectée mais ne donnent aucune indication quant à la qualité de la préparation des échantillons cliniques. Seule l’utilisation d’échantillons positifs permet de contrôler l’étape de la préparation des cellules.

11.1.2 Contrôle négatif

Les lames de contrôle négatif doivent être préparées à partir de cellules intactes non contaminées du même type que celles utilisées pour la culture et l’isolement des virus Parainfluenza. Ces cellules doivent être préparées et fixées comme indiqué à

la Section 9.2, et marquées comme indiqué à la Section 10. Les cellules qui se trouvent sur la lame de contrôle négatif présentent une coloration rouge au contact du contre-colorant, le bleu Evans.

Des échantillons cliniques négatifs devront être utilisés pour contrôler la qualité de la préparation des échantillons.

11.2. ECHANTILLONS CLINIQUES

11.2.1 Aspect des cellules contaminées par les virus Parainfluenza

On constate une fluorescence granulaire vert pomme intracellulaire, nucléaire et/ou cytoplasmique dans les cellules épithéliales infectées par le virus Parainfluenza.

Les cellules non infectées sont colorées en rouge avec le colorant bleu Evans.

11.2.2 Interprétation des résultats

On établit un diagnostic positif lorsqu’une ou plusieurs cellules du spécimen marqué fixé présentent la fluorescence spécifique décrite dans le paragraphe 11.2.1 en présence du réactif IMAGEN Parainfluenza virus Group ou de l’un des réactifs individuels IMAGEN Parainfluenza virus type 1, 2 and 3. Le résultat devra être interprété positivement pour l’antigène du virus Parainfluenza.

Un diagnostic négatif est obtenu lorsque des spécimens marqués fixés ne présentent pas de fluorescence que ce soit avec le réactif IMAGEN Parainfluenza virus Group ou avec l’un des réactifs individuels IMAGEN Parainfluenza virus types 1, 2 and 3. Le résultat devra être interprété négativement pour l’antigène du virus Parainfluenza, en attendant les résultats de la culture.

Pour les aspirations nasopharyngées, il convient d’observer au moins 20 cellules épithéliales respiratoires non infectées avant de prononcer un résultat négatif. Voir la Section 11.2.3 si un nombre insuffisant de cellules est présent.

Nombre de cellules insuffisant

Si un nombre insuffisant de cellules est présent sur la lame, le restant du spécimen clinique devra être centrifugé à 380g pendant 10 minutes à température ambiante (15 à 30°C).

Remettre en suspension les cellules dans un plus petit volume de PBS avant de redistribuer 25µL sur l’un des puits d’une lame. Le cas échéant, il faudra demander un nouvel échantillon clinique.

11.3. CONFIRMATION PAR LA MISE EN CULTURE ET LE TYPAGE

11.3.1 Aspect des cellules infectées par le virus Parainfluenza

Les cellules infectées présenteront une fluorescence intracellulaire, nucléaire et/ou cytoplasmique vert pomme et devront être considérées comme positives pour la présence du virus Parainfluenza.

Les cellules non infectées sont colorées en rouge avec le colorant bleu Evans et devront être considérées comme négatives pour la présence du virus Parainfluenza.

11.3.2 Interpretation des résultats

Un diagnostic est établi en tant que positif lorsqu’une ou plusieurs cellules de l’échantillon analysé développent la fluorescence spécifique décrite dans le paragraphe 11.3.1 en présence du réactif IMAGEN Parainfluenza virus Group ou de l’un des réactifs IMAGEN Parainfluenza virus Type 1, 2 and 3. Pour qu’un échantillon de culture cellulaire soit considéré comme négatif, au moins 50 cellules non infectées doivent être observées par lame. Voir la Section 11.2.3 si une quantité insuffisante de cellules est présente.

11.3.3 Contrôle de qualité

Des contrôles positifs et négatifs doivent être utilisés à chaque fois que les réactifs IMAGEN Parainfluenza sont utilisés pour déterminer la présence de Parainfluenza dans les cultures de cellules contaminées.

Les lames de contrôle positif fournies permettent de contrôler la procédure de marquage et de vérifier la réactivité du réactif avec les cellules contaminées par le virus Parainfluenza.

Des lames de contrôle positif supplémentaires sont disponibles auprès de Oxoid (Code S6111).

Les réactifs et la technique doivent également être contrôlés en utilisant un prélèvement négatif provenant d’une culture cellulaire non inoculée (non contaminée) du type utilisé pour la détection des virus Parainfluenza.

S’il n’y a pas suffisamment de cellules sur la lame (moins de 50) ou sur la préparation du puits de la lame de contrôle négatif, il convient alors de centrifuger le reste de l’échantillon de culture cellulaire à 200g pendant 10 minutes, à température ambiante (15 à 30°C), et de resuspendre les cellules dans un plus petit volume de PBS (approx. 50µL). Déposer 25µL de suspension cellulaire dans les puits, et suivre la procédure décrite aux paragraphes 9 et 10.

Si les deux réactifs IMAGEN Parainfluenza pour le groupage et pour le typage des virus sont utilisés et que des résultats négatifs sont obtenus avec les 3 réactifs individuels, après qu’un résultat positif ait été obtenu avec le réactif de groupage, il convient de préparer des échantillons de cellules supplémentaires et de refaire le test. Alternativement, la culture devrait être traitée pour amplifier la quantité de virus et le nombre de cellules infectées présentes avant de répéter le test d’immunofluorescence.

12. LIMITES DU TEST

12.1. N’utiliser que le liquide de montage fourni.

12.2. Une coloration non spécifique apparaît parfois dans les tests immunochimiques, en raison d’une liaison entre les fragments Fc de l’anticorps et la protéine A produite par la paroi cellulaire de certaines souches de *Staphylococcus aureus*. Les réactifs du test IMAGEN Parainfluenza virus ont été modifiés pour diminuer la liaison avec la protéine A de la souche Cowan 1 du *Staphylococcus aureus*. Cependant, il se pourrait que l’anticorps utilisé dans le réactif du virus Parainfluenza de type 1 montre une très faible réaction croisée avec la protéine A du *Staphylococcus aureus*.

Le *Staphylococcus aureus* peut être présent dans les échantillons cliniques et être alors inoculé dans une structure cellulaire où sa reproduction devrait être inhibée par des antimicrobiens.

Le *Staphylococcus aureus* présente invariablement un groupement caractéristique en tétrade ou en grappes de raisins, constitué de cocci (d’un diamètre d’environ 1µm chacun), généralement extracellulaire, contrairement au marquage intracellulaire et finement granuleux qui caractérise la structure cellulaire contaminée par le virus Parainfluenza.

12.3. Le type et l’état du matériel utilisé influenceront l’aspect visuel de l’image obtenue. La réaction finale pourra varier en fonction du type de microscope employé, de la source de lumière, de l’âge de l’ampoule, du filtre et de l’épaisseur du filtre, des différences de sensibilité du substrat ou des

méthodes de dosage utilisées. Chaque laboratoire devra établir individuellement ses propres critères de lecture des résultats au moyen de contrôles appropriés.

12.4. L’absence de détection du virus dans ce cas peut provenir d’un mauvais prélèvement, d’une mauvaise manipulation de l’échantillon, de l’échec d’une culture cellulaire, etc. Un résultat négatif n’exclut pas la possibilité d’une infection par le virus Parainfluenza.

12.5. Les réactifs IMAGEN réagissent avec les antigènes du virus Parainfluenza présents dans les cellules infectées. Cependant, un résultat positif n’est pas un indicateur de la viabilité du virus Parainfluenza présent.

12.6. Les anticorps monoclonaux utilisés dans les réactifs IMAGEN ont été produits avec des souches typiques du virus Parainfluenza. Les anticorps ne détecteront pas nécessairement toutes les variations antigéniques ou les nouvelles souches du virus Parainfluenza.

12.7. Les épitopes visés par les anticorps monoclonaux présents dans les réactifs IMAGEN pourront donner lieu à de nouvelles variations antigéniques qui ne seront éventuellement pas reconnues par les anticorps.

12.8. La prévalence du virus affectera la valeur prédictive de l’essai.

12.9. La fluorescence obtenue peut varier en fonction du type de microscope et de la source lumineuse utilisés.

12.10. Il est recommandé d’utiliser 25µL de réactif pour couvrir la surface d’un puits de 6mm de diamètre. Si ce volume est réduit, il risque de s’avérer difficile de couvrir la surface de l’échantillon, au risque de diminuer la sensibilité.

12.11. Tous les réactifs sont fournis prêts à l’emploi. Les performances du test pourraient être affectées en cas de modification des réactifs par l’utilisateur ou de non respect des conditions de conservation.

12.12. Les résultats des tests doivent être interprétés en se basant également sur les études épidémiologiques et les évaluations cliniques du patient, et sur d’autres procédures diagnostiques.

13. VALEURS NORMALES

Le taux de détection des virus Parainfluenza peut varier en fonction du type de test utilisé, de la méthode, du moment et du site de prélèvement, de la manipulation, de la conservation et du transport des échantillons.

Il dépend également des taux de prévalence dans la population, ainsi que de l’âge, de la situation géographique et du statut socio-économique de la population étudiée. Les types 1, 2 et 3 du virus Parainfluenza sont répandus partout dans le monde et sont associés aux infections de l’appareil respiratoire en climats tempérés, tropicaux et arctiques.¹⁰ La plupart des infections se produisent chez les enfants de moins de 5 ans ; les virus Parainfluenza y sont responsables de jusqu’à 20% des infections de l’appareil respiratoire et de 30 à 40% des cas de croup.^{11,12}

Plus de 90% des enfants connaîtront une primo-infection au virus Parainfluenza, et 50% d’entre eux présenteront des réinfections symptomatiques.²

Les virus Parainfluenza présentent des taux élevés de prévalence pendant les apparitions saisonnières d’infections de l’appareil respiratoire. Dans les zones tempérées, les virus Parainfluenza sont plus communément associés aux épidémies des mois

d'automne et d'hiver.^{13,14} Dans certaines régions, les apparitions d'infections du virus Parainfluenza du type 3 peuvent aussi se produire durant le printemps et l'été.³

Les taux les plus élevés de poussées d’infections s’observent chez les enfants âgés de 1 à 5 ans. Les infections ou réinfections chez les enfants plus âgés et chez les adultes sont habituellement associées à des symptômes respiratoires plus bénins.

Des virus Parainfluenza ont été impliqués dans l'apparition d'infections de l'appareil respiratoire dans les hôpitaux, particulièrement dans les services pédiatriques et dans les institutions gériatriques, où ils ont été associés à une augmentation de la morbidité et de la mortalité⁶.

Pendant l’hiver 1994-1995, l’incidence générale du virus Parainfluenza dans un centre d'essai était de 12,5% (21/168) pour le virus Parainfluenza de type 1, de 1,8% (3/168) pour le virus Parainfluenza de type 2 et de 14,3% (24/168) pour le virus Parainfluenza de type 3.

Ces chiffres ne reflètent pas avec précision la prévalence du virus Parainfluenza dans la population globale car les échantillons ont été prélevés dans une population sélectionnée et faisant l'objet d'une étude sur les infections des voies respiratoires.

14. PERFORMANCES

14.1. ETUDES CLINIQUES

14.1.1 Echantillons cliniques

Le test IMAGEN Parainfluenza virus Group et le test IMAGEN Parainfluenza pour virus 1, 2 and 3 Typing ont été directement évalués sur sécrétions nasopharyngées dans trois centres, un aux Etats-Unis et deux au Royaume-Uni. Les échantillons directs ont été prélevés pendant l'hiver 1994-1995.

L’essai clinique a été effectué sur des aspirations nasopharyngées de patients susceptibles d’être atteints d’infections virales respiratoires, prélevées et traitées de la manière décrite dans la Section 9.1.1. Des lames fixées à l’acétone ont été testées soit directement (stockées à une température comprise entre 2-8°C et testées dans les 3 jours qui suivent), soit congelées et testées à une date ultérieure.

Les méthodes de référence standard utilisées consistaient en un test d’immunofluorescence indirect disponible dans le commerce, et en un isolement en culture suivi d’une identification.

Un échantillon était reconnu positif avec le réactif IMAGEN Parainfluenza virus Group si une ou plusieurs cellules épithéliales respiratoires présentaient la fluorescence typique décrite dans la Section 11.2.1.

14.1.2 Confirmation de culture

Le test IMAGEN Parainfluenza virus Group et le test IMAGEN Parainfluenza virus 1, 2 and 3 Typing ont été analysés dans 4 centres d’évaluation au Royaume-Uni. Les essais cliniques ont été effectués de juillet à octobre 1991.

Pendant cette période, l’incidence générale du virus Parainfluenza dans un centre d’essai était de 14,4 % (15/104) pour le virus Parainfluenza 1, et de 8,7 % (9/104) pour le virus Parainfluenza 3.

Ces chiffres ne reflètent pas avec précision la prévalence du virus Parainfluenza dans la population générale car les échantillons ont été prélevés sur une population sélectionnée faisant l’objet d’études sur les infections des voies respiratoires. Les études ont été effectuées sur des échantillons préparés à partir de monocouches de cultures cellulaires inoculées avec

des échantillons cliniques prélevés sur des patients susceptibles d’être infectés par le virus Parainfluenza. Les méthodes standard utilisées pour identifier le virus Parainfluenza dans les cultures cellulaires IMAGEN ont été composées de tests de neutralisation ou d’immunofluorescence indirecte.

Les réactifs IMAGEN Parainfluenza virus ont aussi été testés pour vérifier leur réactivité croisée par rapport à une série de micro-organismes susceptibles d’être présents dans des échantillons cliniques de routine (voir la Section 14.3).

14.2. PERFORMANCES CLINIQUES

14.2.1 Echantillons directs

Un total de 222 échantillons provenant de patients susceptibles d’être atteints d’infections virales respiratoires ont été testés au moyen du test IMAGEN Parainfluenza virus Group et du test IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3.

Dans un centre au nord-est des Etats-Unis, pendant l’hiver 1994-1995, 184 échantillons au total ont été prélevés sur une population pédiatrique et évalués pour déterminer la sensibilité et la spécificité du test. La majorité de ces échantillons ont été testés par rapport à l’isolement viral, et un plus petit nombre d’entre eux ont été testés par rapport au test d’immunofluorescence indirect de référence.

Les Tableaux 14.1 et 14.2 indiquent les résultats du centre américain. Dans les deux centres britanniques, une sélection des échantillons dans lesquels le virus Parainfluenza avait été reconnu a été évaluée pour augmenter le nombre des échantillons positifs obtenus. On peut voir ces résultats sur les Tableaux 14.3 et 14.4. Les résultats comparant les taux de positivité des virus Parainfluenza dans tous les centres sont indiqués dans les Tableaux 14.5 et 14.6.

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3)

Dans le centre américain, le test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) a fait apparaître une corrélation de 97,6% par rapport à la culture virale, et de 98,4% par rapport au test d’immunofluorescence indirect de référence. La sensibilité relative et la spécificité du test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) ont été respectivement de 97,9% et 97,5% par rapport à l'isolement viral. Par rapport au test d’immunofluorescence indirect de référence, la sensibilité relative et la spécificité étaient de 96,2% et de 99,0% respectivement.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 1

Dans le centre américain, le réactif IMAGEN Parainfluenza virus Type 1 a présenté une corrélation, une sensibilité et une spécificité de 100% par rapport à l’isolement viral et au test d’immunofluorescence de référence.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 2

Dans le centre américain, le réactif du IMAGEN Parainfluenza virus Type 2 a présenté une corrélation, une sensibilité et une spécificité de 100% par rapport à l’isolement viral et au test d’immunofluorescence de référence.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 3

Dans le centre américain, le réactif IMAGEN Parainfluenza virus Type 3 a présenté une corrélation de 97,6%, et une sensibilité et spécificité de 91,6% et 98,6% respectivement par rapport à l’isolement viral. Comparé au test d’immunofluorescence de référence, la corrélation, la sensibilité et la spécificité étaient de 98,4%, 75% et 99,1% respectivement.

Tableau 14.1 Comparaison des réactifs IMAGEN Parainfluenza virus et de l'isolement sur des aspirations nasopharyngées au centre américain

Réactif IMAGEN Parainfluenza virus	Réactifs IMAGEN Parainfluenza virus			
	Nbre. d'échantillons testés	Nbre. d'échantillons positifs par isolement viral	Sensibilité	Spécificité
Parainfluenza 1 (95% Intervalles de confiance)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Parainfluenza 2 (95% Intervalles de confiance)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Parainfluenza 3 (95% Intervalles de confiance)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)
Parainfluenza Group (95% Intervalle de confiance)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)

Tableau 14.2 Comparaison des réactifs IMAGEN Parainfluenza virus et de l'immunofluorescence de référence sur les prélèvements aspirés nasopharyngés au centre américain

Réactif IMAGEN Parainfluenza virus	Réactifs IMAGEN Parainfluenza virus			
	Nbre. d'échantillons testés	Nbre. d'échantillons positifs par l'immuno-fluorescence de référence	Sensibilité relative	Spécificité relative
Parainfluenza 1 (95% Intervalles de confiance)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Parainfluenza 2 (95% Intervalles de confiance)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Parainfluenza 3 (95% Intervalles de confiance)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Parainfluenza Group (95% Intervalle de confiance)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Remarque: le terme ‘Relative’ désigne la comparaison des résultats de cet essai avec ceux d’un essai similaire. La corrélation des résultats de l’essai avec la présence ou l’absence de maladie n’a pas été tentée. Aucun jugement ne peut être prononcé sur l’exactitude de l’essai de comparaison relativement à l’existence de la maladie.

Tableau 14.3 Comparaison des performances des réactifs IMAGEN Parainfluenza et de l'isolement viral sur aspirations nasopharyngées dans 2 centres

Isolement viral	Pos	Nég	Pos	Nég
Réactif IMAGEN	Pos	Nég	Nég	Pos
Parainfluenza 1	n = 35	3	31	0
Parainfluenza 2	n = 35	2	32	1*
Parainfluenza 3	n = 35	27	7	1*
Parainfluenza Group	n = 35	30	0	4***

* Les deux spécimens étaient aussi reconnus comme négatifs par l’immunofluorescence de référence.
** Ce spécimen était aussi reconnu comme positif par l’immunofluorescence de référence
*** Deux de ces spécimens étaient aussi reconnus comme négatifs par l’immunofluorescence de référence.

Tableau 14.4 Comparaison des performances des réactifs IMAGEN Parainfluenza et de l'immunofluorescence de référence sur des aspirations nasopharyngées dans 2 centres britanniques.

Immunofluorescence de référence Réactif IMAGEN	Pos	Nég	Pos	Nég
	Pos	Nég	Nég	Pos
Parainfluenza 1	n = 38	3	35	0
Parainfluenza 2	n = 38	3	35	0
Parainfluenza 3	n = 38	30	8	0
Parainfluenza Group	n = 38	34	2	2*

* Un spécimen ne contenait que quelques cellules.

Tableau 14.5 Comparaison des taux de positivité du virus Parainfluenza avec les réactifs IMAGEN Parainfluenza et l'isolement viral sur les aspirations nasopharyngées de tous les centres

Réactif IMAGEN	Nombre détecté par isolement viral	Nombre détecté avec les réactifs IMAGEN	% de corrélation
Parainfluenza 1	24	24	100%
Parainfluenza 2	6	5	83,3%
Parainfluenza 3	52	49	94,2%
Parainfluenza Group	82	77	93,9%

Tableau 14.6 Comparaison des taux de positivité du virus Parainfluenza avec les réactifs IMAGEN Parainfluenza et avec l'immunofluorescence de référence sur aspirations nasopharyngées de tous les centres

Réactif IMAGEN	Nombre détecté par immuno-fluorescence de référence	Nombre détecté avec les réactifs IMAGEN™	% de corrélation
Parainfluenza 1	24	24	100%
Parainfluenza 2	4	4	100%
Parainfluenza 3	34	33	97,0%
Parainfluenza Group	62	59	95,2%

14.2.2 Confirmation par mise en culture

IMAGEN Parainfluenza virus Group

Le test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) a fait apparaître une corrélation de 98,3% avec les méthodes standards (voir le Tableau 14.7). La sensibilité et la spécificité relatives du test étaient respectivement de 98,3% et 98,5%.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3

La sensibilité relative des réactifs spécifiques aux types 1, 2 et 3 du virus Parainfluenza étaient respectivement de 96,1%, 100% et 97,4%. La spécificité relative des réactifs spécifiques aux types 1, 2 et 3 du virus Parainfluenza étaient respectivement de 99,3%, 99,7% et 98,4%.

Tableau 14.7 Comparaison entre les réactifs IMAGEN et les méthodes standard de confirmation de culture

Réactifs IMAGEN Parainfluenza	Nbre d'échantillons testés	Nbre d'échantillons positifs par les méthodes standard	Résultats obtenus avec les réactifs IMAGEN Parainfluenza virus*	
			Sensibilité relative	Spécificité relative ^b
Parainfluenza 1 (95% Intervalles de confiance)	322	51	96,1% (49/51) (86,5% - 99,5%)	99,3% (269/271) (97,4% - 99,9%)
Parainfluenza 2 (95% Intervalles de confiance)	315	24	100% (24/24) (85,8% - 100%)	99,7% (290/291) (98,1% - 100%)
Parainfluenza 3 (95% Intervalles de confiance)	345	155	97,4% (151/155) (93,5% - 99,3%)	98,4% (187/190) (95,5% - 99,7%)
Parainfluenza Group (95% Intervalle de confiance)	363	229	98,3% (225/229) (95,6% - 99,5%)	98,5% (132/134) (94,7% - 99,8%)

- ^a Les résultats d’un des quatre centres d’essai incluent un pourcentage d’échantillons congelés.
- ^b Les réactifs IMAGEN Parainfluenza virus ont détecté 2 souches de type 1 et une souche de type 3 non détectées par les techniques standard.

14.3. REACTIVITE CROISEE

Les micro-organismes répertoriés dans le Tableau 14.8 ont été testés avec les tests IMAGEN Parainfluenza virus Group et IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 et n’ont mis aucune réactivité croisée en évidence. Des études de réactivité croisée ont été effectuées sur des lames portant des échantillons de cultures sur bouillon ou d’isolats microbiens récents.

Tableau 14.8 Micro-organismes testés avec les réactifs IMAGEN Parainfluenza et ne présentant aucune réactivité croisée

Micro-organisme	Source	Nbre d'échantillons testés
Acholeplasma laidlawii	Bouillon de culture de la souche NCTC 10116 t	1
Adénovirus type 1	Culture cellulaire	9
Adénovirus type 2	Culture cellulaire	5
Adénovirus type 3	Culture cellulaire	8
Adénovirus type 4	Culture cellulaire	3
Adénovirus type 5	Culture cellulaire	4
Adénovirus type 7	Culture cellulaire	3
Adénovirus type 10	Culture cellulaire	1
Adénovirus type 41	Culture cellulaire	1
Bordetella parapertussis	Culture cellulaire	1
Bordetella pertussis	Milieu de culture	1
Branhamella catarrhalis	Milieu de culture	1
Candida albicans	Milieu de culture	1
Chlamydia pneumoniae	Culture cellulaire et milieu de culture	1 de chaque
Chlamydia psittaci	Culture cellulaire	2
Chlamydia trachomatis	Culture cellulaire	2
Virus du cow-pox	Culture cellulaire	1
Coxsackie virus type A7	Culture cellulaire	1
Coxsackie virus type A9	Culture cellulaire	1
Coxsackie virus type B3	Culture cellulaire	3
Coxsackie virus type B4	Culture cellulaire	1
Coxsackie virus type B5	Culture cellulaire	2
Cytomégalo virus	Culture cellulaire	2
Echovirus type 5	Culture cellulaire	1
Echovirus type 11	Culture cellulaire	1
Echovirus type 19	Culture cellulaire	2
Echovirus type 30	Culture cellulaire	4
Virus Epstein Barr	Culture de lignée cellulaire continue	1
Escherichia coli	Milieu de culture	1
Virus spumeux	Culture cellulaire	1

Micro-organisme	Source	Nbre d'échantillons testés
Haemophilus influenzae	Milieu de culture et crachat	1 de chaque
Herpès simplex virus type 1	Culture cellulaire	3
Herpès simplex virus type 2	Culture cellulaire	2
Influenza virus A	Culture cellulaire	2
Influenza virus B	Culture cellulaire	2
Klebsiella pneumoniae	Milieu de culture	1
Legionella pneumophila	Milieu de culture	1
Virus de la rougeole	Culture cellulaire	3
Virus des oreillons	Culture cellulaire	8
Mycobacterium avium	Milieu de culture	1
Mycobacterium intracellulare	Milieu de culture	1
Mycobacterium tuberculosis	Milieu de culture	1
Mycoplasma arginini	Milieu de culture de la souche NCTC 10129	1
Mycoplasma hominis	Milieu de culture de la souche NCTC 10111	1
Mycoplasma hyorhinus	Milieu de culture de la souche NCTC 10130	1
Mycoplasma orale	Milieu de culture de la souche NCTC 10112	1
Mycoplasma pneumoniae	Milieu de culture de la souche NCTC 10119	1
Mycoplasma salivarium	Milieu de culture de la souche NCTC 10113	1
Neisseria cinerea	Milieu de culture	1
Neisseria flavescens	Milieu de culture	1
Neisseria gonorrhoeae	Milieu de culture	1
Neisseria lactamica	Milieu de culture	1
Neisseria meningitidis A, B, C & D	Milieu de culture	1 de chaque
Neisseria mucosa	Milieu de culture	1
Neisseria perflava	Milieu de culture	1
Neisseria pharyngis	Milieu de culture	1
Parainfluenza virus 4a	Culture cellulaire	2
Pneumocystis carinii	Echantillon clinique	1
Polio virus type 1	Culture cellulaire	1
Polio virus type 2	Culture cellulaire	2
Polio virus type 3	Culture cellulaire	3
Virus syncytial respiratoire	Culture cellulaire	8
Rhinovirus	Culture cellulaire	6
Sendai virus	Culture cellulaire	1
Streptococcus groupes A, B, C, D, F et G	Milieu de culture	1 de chaque
Streptococcus pneumoniae	Crachat	1
Herpesvirus varicellae	Culture cellulaire	2

15. REFERENCES

- 1. Matthew, R.E.F. (1982)**
Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology* **14**: 1-199.
- 2. Welliver, R. (1982)**
Natural history of parainfluenza virus infection in childhood. *Journal of Paediatrics* **101**: 180-187
- 3. Martin, A.J., Gardener, P.S., and McQuillin, J. (1978)**
Epidemiology of respiratory viral infection among paediatric outpatients over a six year period in North East England. *The Lancet* ii: 1035-1038
- 4. Cullen, S.J., Baublis, J.V. (1980)**
Parainfluenza type 3 parotitis in two immunodeficient children. *Journal of Paediatrics* **96**: 437-438
- 5. Jarvis, W.R., Middleton, A.J., Gelford, E.W. (1979)**
Parainfluenza pneumonia in severe combined immunodeficiency. *Journal of Paediatrics* **94**: 423-429

- 6. Purkiss, D. (1983)**
Parainfluenza infections in the elderly. *PHLS Communicable Disease Report* **83/19**: 3
- 7. McClean, D.M. and Wong, K.K. (1984)**
Same day diagnosis of human virus infections. CRS Press, Boca Raton, Florida.
- 8. Gardener, P.S. and McQuillen, J. (1980)**
Rapid virus diagnostics: Applications of immunofluorescence. 2nd edn. Butterworths, London.
- 9. Ray, C.G. and Minnich, L.C. (1987)**
Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *Journal of Clinical Microbiology* **25**:355-357
- 10. McClean, D.M. (1988)**
Virological infections. Thomas Springfield, Illinois.
- 11. McClean, D.M., Bannatyre, R.M. and Givan, K.F. (1967)**
Myxovirus dissemination by air. *Canadian Medical Association Journal* **89**: 1257-59
- 12. Gardener, P.S., McQuillin, J., McGuckin, R. and Ditchburn, R.K. (1971)**
Observations on clinical and immunofluorescent diagnosis of parainfluenza virus infections. *BMJ* **2**: 571-575
- 13. McClean, D.M. (1991)**
Parainfluenza viruses. Zuckerman, A.J., Banatvala, J.E., Pattison, J.R. eds. Principle and Practice of Clinical Virology 2nd Edition, J. Wiley & Sons: 239-251
- 14. Anestad, G. (1987)**
Surveillance of respiratory viral infection by rapid immunofluorescence with emphasis on viral interference. *Epidemiology and Infection* **99**: 523-531

CE

X7849 Révisé Février 2013

REF

X610411-2,

X610311-2

Σ

50 tests

Σ

50 tests

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Royaume-Uni

Pour toute information, veuillez contacter votre filiale distributeur