IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 AND 3

REF K610311-2 Σ 50
K610411-2 Σ 50

IT

Un test di immunofluorescenza diretta per il rilevamento dei virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3.

1. USO PREVISTO

I kit del test **IMAGEN™ Parainfluenza** virus sono test qualitativi di immunofluorescenza diretta per il rilevamento e il differenziamento dei virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 direttamente negli aspirati nasofaringei o nelle colture cellulari. I kit sono disponibili in 2 formati:

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) (codice n. K6103) per il rilevamento e la conferma della presenza degli antigeni del virus della parainfluenza direttamente negli aspirati nasofaringei e nelle preparazioni di colture cellulari.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (codice n. K6104) per il rilevamento e il differenziamento dei virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 direttamente negli aspirati nasofaringei e nelle preparazioni di colture cellulari.

Un risultato negativo ottenuto con la colorazione diretta degli aspirati nasofaringei deve essere considerato presunto, fino alla successiva conferma mediante coltura cellulare.

2. SOMMARIO

I virus della parainfluenza appartengono al genere *Paramyxovirus* classificato nella famiglia *Paramyxoviridae*.[1] Sono note 6 specie di *Paramyxovirus* in grado di infettare l'uomo, tra le quali i virus della parainfluenza tipo 1, 2, 3 e 4 (sottotipi 4a e 4b), il virus della parotite e il virus della malattia di Newcastle. Dei 4 virus della parainfluenza i tipi 1, 2 e 3 sono riconosciuti quali i principali responsabili della malattia respiratorio acuta in neonati e bambini.[2,3]

I virus della parainfluenza si diffondono mediante il contatto diretto o l'inalazione di goccioline contenenti il virus disperse dal tratto respiratorio degli individui sintomatici. Le secrezioni nasali possono contenere un'elevata concentrazione virale. Il virus si moltiplica nelle cellule dell'epitelio colonnare ciliato del tratto respiratorio superiore e inferiore causando la necrosi e il distacco cellulare. La diffusione virale si verifica dal giorno precedente al settimo giorno successivo l'insorgenza dei sintomi. Nei pazienti immunocompromessi la diffusione può continuare.[4,5]

I virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 possono infettare e causare la malattia in tutto il tratto respiratorio superiore e inferiore. La maggioranza delle infezioni da virus della parainfluenza si manifesta clinicamente come laringotracheobronchite acuta (croup) in neonati e bambini; ma possono essere associate anche a tracheobronchiti, bronchiti, polmoniti e una serie di sintomi correlati al tratto respiratorio superiore.

A volte nei neonati le infezioni da virus della parainfluenza possono essere gravi, causando ostruzione delle vie respiratorie e dolore respiratorio con conseguente aumento della morbilità e della mortalità nei pazienti con malattia sottostante, quale fibrosi cistica, o nei pazienti immunocompromessi.

Nei reparti pediatrici e geriatrici i virus della parainfluenza sono stati associati a epidemie di infezioni del tratto respiratorio con conseguente allungamento dell'ospedalizzazione e aumento della morbilità e della mortalità.[6] La diagnosi precoce è importante nella gestione dei pazienti e nel controllo delle epidemie.

Attualmente i principali metodi di diagnosi utilizzati per la diagnosi delle infezione da virus della parainfluenza consistono o nell'isolamento e identificazione nelle colture cellulari in monostrato o nel rilevamento diretto del virus nei campioni clinici.

Dopo l'isolamento virale da coltura cellulare per l'identificazione del virus è necessario realizzare ulteriori analisi, neutralizzazione, inibizione dell'emoagglutinazione o microscopia elettronica. Questi test sono difficili, richiedono tempo oltre a un grado di esperienza tecnica non sempre disponibile in laboratorio.

Più recentemente sono stati descritti test di immunofluorescenza indiretta che usano anticorpi policlonali o monoclonali per l'identificazione e la conferma dei virus della parainfluenza in colture cellulari in monostrato o direttamente in campioni clinici.[7,8,9] I test di immunofluorescenza diretta che utilizzano anticorpi monoclonali marcati con fluoresceina, offrono un metodo di rilevamento dei virus da campioni clinici e colture cellulari più rapido e specifico.

I kit dei test IMAGEN Parainfluenza virus sono test di immunofluorescenza diretta per il rilevamento e l'identificazione dei virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 direttamente negli aspirati nasofaringei o nelle colture cellulari. I test utilizzano anticorpi monoclonali tipo specifici per rilevare e identificare i virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3.

3. PRINCIPIO DEL TEST

I kit dei test IMAGEN Parainfluenza virus contengono anticorpi monoclonali coniugati con isotiocianato di fluoresceina (FITC) che si legano specificamente ai virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 e sono utilizzati nella tecnica di immunofluorescenza diretta a singolo passaggio. I campioni sono incubati con i reagenti coniugati con FITC per 15 minuti. Il reagente in eccesso è poi rimosso mediante il lavaggio con soluzione salina a tampone fosfato (PBS). Le aree colorate sono fissate e analizzate mediante microscopia a epiflluorescenza. In presenza dei virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 si osserva la caratteristica fluorescenza intracellulare verde mela all'interno delle cellule infettate, mentre le cellule non infettate appaiono rosse.

Riconoscimenti

Gli anticorpi monoclonali utilizzati in questi test derivano dal reparto di Virus respiratori ed enterici, Public Health Services, Centre for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.

4. DEFINIZIONI

I seguenti simboli sono stati utilizzati nelle informazioni del prodotto.

REF	Codice del prodotto e numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso
Σ N	Contiene materiale sufficiente per 'X' test
	Fabbricato da
IVD	Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*
	Utilizzare entro
LOT	Codice del lotto
	Limiti di temperatura di conservazione

5. REAGENTI FORNITI

Σ 50 - Ogni kit contiene materiale sufficiente per 50 analisi di preparazioni di colture cellulari.

- La stabilità del kit è indicata nell'etichetta all'esterno della confezione.

5.1. REAGENTI DELL'IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS FORNITI

	istruzioni per l'uso
POSITIVE CONTROL SLIDE	2 vetrini con 3 pozzetti di controlli positivi, contenenti cellule di rene di scimmia verde dell'Africa (Veros) fissate con acetone infettate con il virus della parainfluenza tipo 1, 2 o 3 (ceppi CDC V6-004, CDC V7-003 e CDC V5-003, rispettivamente).
MOUNTING FLUID	Mezzo di montaggio, 3mL. Il liquido di fissaggio contiene un inibitore fotodecolorante in una soluzione di glicerolo (pH 10,0).

Un flacone di ciascuno dei seguenti:

IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS GROUP REAGENTS – K6103

REAGENT G	IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 reagent, 1,4mL. Questo reagente è composto da una miscela di 3 anticorpi monoclonali murini purificati, specifici per i virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3, coniugati con FITC e diluiti in una soluzione salina a tampone fosfato con stabilizzatore proteico, contenente il colorante blu Evans come colorante di contrasto. Gli anticorpi monoclonali sono specifici per la proteina F del virus della parainfluenza 1, la proteina dell'emoagglutinina del virus della parainfluenza 2 e la proteina dell'emoagglutinina del virus della parainfluenza 3, rispettivamente.

OPPURE

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

REAGENT 1	IMAGEN Parainfluenza virus 1 reagent, 1,4mL. Questo reagente è composto da un anticorpo monoclonale murino purificato, specifico per il virus della parainfluenza tipo 1 (specifico contro la proteina F del virus della parainfluenza 1), coniugato con FITC e diluito in una soluzione salina a tampone fosfato con stabilizzatore proteico, contenente il colorante blu Evans come colorante di contrasto.
REAGENT 2	IMAGEN Parainfluenza virus 2 reagent, 1,4mL. Questo reagente è composto da un anticorpo monoclonale murino purificato, specifico per il virus della parainfluenza tipo 2 (specifico contro la proteina dell'emoagglutinina del virus della parainfluenza 2), coniugato con FITC e diluito in una soluzione salina a tampone fosfato con stabilizzatore proteico, contenente il colorante blu Evans come colorante di contrasto.
REAGENT 3	IMAGEN Parainfluenza virus 3 reagent, 1,4mL. Questo reagente è composto da un anticorpo monoclonale murino purificato, specifico per il virus della parainfluenza tipo 3 (specifico contro la proteina dell'emoagglutinina del virus della parainfluenza 3), coniugato con FITC e diluito in una soluzione salina a tampone fosfato con stabilizzatore proteico, contenente il colorante blu Evans come colorante di contrasto.

5.2. PREPARAZIONE, CONSERVAZIONE E RIUTILIZZO DEI COMPONENTI DEL KIT

Per garantire il risultato ottimale del test è importante che i componenti del kit inutilizzati siano conservati secondo le istruzioni.

5.3. VETRINI DEL CONTROLLO POSITIVO - POSITIVE CONTROL SLIDE

I vetrini del controllo positivo sono forniti in confezioni singole in buste di alluminio in atmosfera di azoto. Conservarli a 2-8°C. Il vetrino deve essere lasciato nella sua busta per 5 minuti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'apertura.

Colorare i vetrini immediatamente dopo l'apertura della confezione.

5.4. MEZZO DI MONTAGGIO - MOUNTING FLUID

Pronto per l'uso. Conservare il mezzo di montaggio inutilizzato a 2-8°C. Il mezzo di montaggio deve essere lasciato per 5 minuti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'apertura.

5.5. REAGENTS, GROUP, 1, 2 AND 3 - REAGENT G / REAGENT 1 / REAGENT 2 / REAGENT 3

Pronti per l'uso. Conservare i reagenti inutilizzati al buio a 2-8°C. I reagenti devono essere lasciati per 5 minuti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'apertura.

6. ALTRI REAGENTI E ATTREZZATURA RICHIESTI

6.1. REAGENTI

Acetone fresco (per la fissazione).

Soluzione salina a tampone fosfato (PBS) pH 7,5 per il lavaggio dei campioni colorati e per la preparazione dei campioni.

6.2. ACCESSORI

I seguenti prodotti sono destinati all'uso con K6103 e K6104. Per ulteriori informazioni contattare la il distributore di zona.

Vetrini in vetro per microscopia coattati con teflon con pozzetti singoli di 6 mm di diametro (100 vetrini per scatola), disponibili presso la il distributore (codice n. S6114).

Vetrini del controllo positivo (codice n. S6111).

7. ATTREZZATURA

È necessaria la seguente attrezzatura:

pipette di precisione e puntali monouso per la dispensazione di 25µL,

bagno di lavaggio,

vetrini coprioggetto per coprire i pozzetti di 6mm di diametro,

olio di immersione non fluorescente,

microscopio a epifluorescenza con sistema di filtri per FITC

(lunghezza d'onda massima di eccitazione 490nm, lunghezza d'onda media di emissione 520nm) e ingrandimento 200x-500x,

incubatore a 37°C,

centrifuga a bassa velocità.

Per i campioni diretti
Estrattore di muco.

Per la conferma in coltura
Tamponi sterili, terreno di trasporto virale (VTM) e contenitore adatto alla raccolta, al trasporto e alla coltura dei virus della parainfluenza. Per informazioni sull'uso di VTM adatti, fare riferimento alla bibliografia 13 nella sezione 13 (disponibile presso la filiale Oxoid di zona).

Linee di colture cellulari consigliate per la coltura e l'isolamento dei virus della parainfluenza.

Un vetrino di controllo negativo preparato dalle cellule intatte non infettate in uso per la coltura e l'isolamento dei virus della parainfluenza. Le cellule devono essere preparate e fissate, come descritto nella sezione 9.1, e colorate, come descritto nella sezione 10.

8. PRECAUZIONI

IVD - Per uso diagnostico *in vitro*. Il personale che esegue un saggio utilizzando questo prodotto deve essere stato addestrato per l'uso ed essere esperto in procedure di laboratorio.

8.1. PRECAUZIONI DI SICUREZZA

8.1.1 I reagenti del test IMAGEN Parainfluenza virus contengono azide sodica <0.1%, che è un veleno. L'azide sodica può reagire con le tubature in rame e in piombo formando azidi metalliche esplosive. Eliminare sempre i materiali contenenti azidi sciacquando abbondantemente con acqua.

8.1.2 È stato dimostrato mediante coltura cellulare che i virus della parainfluenza sul vetrino di controllo non sono infetti, in ogni caso i vetrini devono essere manipolati ed eliminati come materiale potenzialmente infetto.

8.1.3 Nel reagente è presente il colorante blu di Evans. Sebbene la concentrazione presente sia inferiore alla percentuale necessaria affinché il prodotto sia classificato come cancerogeno, è necessario evitare il contatto con la pelle.

8.1.4 Bisogna prestare molta attenzione quando si utilizza Mounting Fluid dal momento che contiene un noto elemento irritante per la pelle. Sebbene la concentrazione minima non consenta di classificare il prodotto come un irritante, in caso di contatto con la pelle lavare con abbondante acqua.

8.1.5 Non mangiare, bere, fumare, conservare né preparare cibi o applicare cosmetici nell'area di lavoro designata.

8.1.6 Non pipettare i materiali a bocca.

8.1.7 Durante la manipolazione di campioni clinici e cellule infette si raccomanda di utilizzare guanti monouso e di lavare sempre le mani dopo aver lavorato con materiale infetto.

8.1.8 Smaltire tutti i campioni clinici in conformità alle normative locali.

8.1.9 Schede di sicurezza sono disponibili su richiesta per l'operatore specializzato.

8.2. PRECAUZIONI TECNICHE

8.2.1 Non utilizzare i componenti dopo la data di scadenza, stampata sulle etichette. Non mischiare o scambiare tra loro reagenti provenienti da lotti differenti.

8.2.2 I reagenti sono forniti a concentrazioni di lavoro fisse. Qualsiasi alterazione dei reagenti o la conservazione non conforme a quanto indicato nella sezione 5 può influire negativamente sul risultato del test.

8.2.3 I reagenti di tipizzazione non devono essere riuniti o usati insieme sullo stesso pozzetto del vetrino, poiché questo potrebbe alterare la prestazione del test.

8.2.4 Preparare una quantità di soluzione salina a tampone fosfato (PBS) necessaria per la giornata lavorativa.

8.2.5 Il lavaggio in PBS è necessario. L'utilizzo di altre soluzioni di lavaggio, come l'acqua del rubinetto o l'acqua distillata può compromettere il risultato del test.

8.2.6 Evitare la contaminazione microbica dei reagenti.

8.2.7 Non congelare i reagenti.

9. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

La raccolta e la preparazione dei campione è di importanza fondamentale per la diagnosi del virus della parainfluenza mediante coltura cellulare. I campioni devono essere prelevati dal sito di infezione durante il periodo di picco di diffusione virale in modo che contengano quanto più materiale infettato possibile. Il campione respiratorio consigliato è l'aspirato nasofaringeo (NPA) che dovrebbe fornire un ampio numero di cellule epiteliali del tratto respiratorio.

9.1. CAMPIONI CLINICI

9.1.1 Secrezioni/aspirati nasofaringei

Raccolta
Raccogliere le secrezioni dalla regione nasofaringea in un estrattore di muco per mezzo di una sonda 8. L'estrattore di muco e la sonda devono essere mantenuti a 2-8°C e inviati al laboratorio quanto prima possibile per l'analisi.

Separazione delle cellule
Se necessario, aggiungere al campione 2mL di soluzione salina a tampone fosfato (PBS) prima della centrifugazione per ridurre la viscosità e diluire il muco. Centrifugare l'estrattore di muco a temperatura ambiente (15-30°C) per 10 minuti a 380g. Rimuovere il surnatante che può essere utilizzato per la coltura cellulare. Risospendere le cellule depositate in 2mL di PBS e pipettare delicatamente le cellule su e giù con una pipetta di calibro grande o agitare con il vortex delicatamente, fino a quando il muco si rompe rilasciando il materiale cellulare. Evitare di pipettare o agitare con il vortex vigorosamente per non danneggiare le cellule. Una volta ottenuta una sospensione limpida, se necessario aggiungere ancora PBS e pipettare o agitare con il vortex per lavare ulteriormente le cellule. Rimuovere ed eliminare qualsiasi aggregato di muco rimasto in questa fase. Il muco in eccesso deve essere rimosso perché impedisce l'adeguata penetrazione del reagente e può dare fluorescenza non specifica.

Se tutte le secrezioni rimangono nella sonda senza raggiungere l'estrattore di muco, rimuovere le secrezioni dalla sonda mediante un lavaggio con PBS. Il modo migliore per farlo è di inserire una pipetta pasteur alla fine della sonda, nell'estremità attaccata all'estrattore di muco; aspirare il liquido adeguato nella sonda ed espellerlo rapidamente fino al distacco delle secrezioni che aderiscono alla parete della sonda. Pipettare su e già la sospensione fino alla distruzione del muco.

Preparazione dei vetrini
Dopo aver completato il processo di separazione cellulare, centrifugare la sospensione cellulare risultante a temperatura ambiente (15-30°C) per 10 minuti a 380g ed eliminare il surnatante. Risospendere le cellule depositate in PBS sufficiente a diluire il muco rimasto, ma mantenendo alta la densità cellulare. Porre 25µL di cellule depositate risospese nel pozzetto di 6mm di diametro del vetrino.

Per il test IMAGEN Parainfluenza virus Group (codice n. K6103) è necessario un pozzetto. Per il test IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (codice n. K6104) sono necessari 3 pozzetti.

Lasciar asciugare il campione all'aria a temperatura ambiente (15-30°C) e fissarlo in acetone fresco a temperatura ambiente (15-30°C) per 10 minuti. Se il campione non è colorato subito, conservarlo a –70°C. I vetrini conservati devono essere testati entro 2 settimane dalla preparazione, poiché durante la conservazione a lungo termine si possono deteriorare.

9.2. CONFERMA CON COLTURA CELLULARE E TIPIZZAZIONE

Inoculo delle colture cellulari
I campioni raccolti per la diagnosi delle infezioni da virus della parainfluenza devono essere inoculati nelle linee cellulari comunemente utilizzate nei laboratori in base ai metodi di laboratorio stabiliti. Esaminare regolarmente le colture cellulari per l'eventuale comparsa di un effetto citopatico (CPE) ed eseguire i test di emoassorbimento a intervalli regolari. Le colture cellulari positive per l'emoassorbimento o che mostrano qualsiasi CPE possono essere fatte crescere e poi testate per la presenza dei virus della parainfluenza.

Preparazione dei vetrini
Stemperare tramite sfregamento lo strato cellulare nel terreno di coltura usando una pipetta sterile Far depositare le cellule centrifugando a 200g per 10 minuti a temperatura ambiente (15-30°C) e rimuovere il surnatante.

Lavare le cellule, risospendendo il deposito cellulare in PBS e centrifugare di nuovo. Rimuovere il surnatante e risospendere il deposito cellulare in un piccolo volume (75-100µL per provetta di coltura) di PBS fresco per mantenere un'alta densità cellulare.

Porre aliquote di 25µL della sospensione cellulare sui singoli pozzetti dei vetrini.

Per il test IMAGEN Parainfluenza virus Group (codice n. K6103) è necessario un pozzetto.

Per il test IMAGEN Parainfluenza virus (codice n. K6104) sono necessari 3 pozzetti.

Lasciar asciugare all'aria e fissare in acetone fresco a temperatura ambiente (15-30°C) per 10 minuti. Se il campione non è colorato immediatamente, conservare a 4°C overnight o congelare a –20°C in caso di periodi di conservazione più lunghi. I vetrini conservati devono essere testati entro 2 settimane dalla preparazione, poiché durante la conservazione a lungo termine si possono deteriorare.

10. PROCEDURA DEL TEST

PRIMA DI SVOLGERE LA PROCEDURA DEL TEST SI PREGA DI LEGGERE LA SEZIONE 8.2, PRECAUZIONI TECNICHE.

Per la procedura del test IMAGEN Parainfluenza virus Group (codice n. K6103) fare riferimento alla sezione 10.1 e per la procedura del test IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (codice n. K6104) fare riferimento alla sezione 10.2.

10.1. IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS GROUP - K6103

10.1.1 Aggiunta dei reagenti

Aggiungere 25µL di Reagent G alla preparazione cellulare fissata (consultare la sezione 9.1), al vetrino del controllo positivo e a quello del controllo negativo. Controllare che il reagente copra l'intera area del pozzetto.

10.1.2 Prima incubazione

Incubare i vetrini con il reagente in una **camera umida** per **15 minuti** a **37°C**. **Non** lasciar asciugare il reagente sul campione, poiché questo determina la formazione della colorazione non specifica.

10.1.3 Lavaggio dei vetrini

Lavare il reagente in eccesso con soluzione salina a tampone fosfato (PBS), quindi lavare delicatamente il vetrino in un bagno con agitatore contenente PBS per 5 minuti. Rimuovere il PBS e lasciar asciugare il vetrino all'aria a temperatura ambiente (15-30°C).

10.1.4 Aggiunta del mezzo di montaggio

Aggiungere una goccia di mezzo di montaggio al centro di ogni pozzetto e porvi un vetrino corpioggetto, controllando che non vi siano bolle d'aria.

10.1.5 Lettura dei vetrini

Esaminare tutta l'area del pozzetto che contiene il campione colorato utilizzando il microscopio a epifluorescenza. Come descritto nella sezione 11, la fluorescenza è visibile con un ingrandimento 200x-500x. (Per ottenere ottimi risultati, esaminare i vetrini immediatamente dopo la colorazione, in ogni caso i vetrini possono essere conservati a 2-8°C, al buio per 72 ore.)

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

10.2.1 Aggiunta dei reagenti

Aggiungere 25µL di Reagent 1 al primo pozzetto, 25µL di Reagent 2 al secondo pozzetto e 25µL di Reagent 3 al terzo pozzetto dei vetrini della preparazione cellulare fissata (consultare la sezione 9.1), del controllo positivo e del controllo negativo. Controllare che il reagente copra l'intera area del pozzetto.

10.2.2 Prima incubazione

Incubare i vetrini con il reagente in una **camera umida** per **15 minuti** a **37°C**. **Non** lasciar asciugare il reagente sul campione, poiché questo determina la formazione di colorazione non specifica.

10.2.3 Lavaggio dei vetrini

Lavare il reagente in eccesso con soluzione salina a tampone fosfato (PBS), quindi lavare delicatamente il vetrino in un bagno con agitatore contenente PBS per 5 minuti. Rimuovere il PBS e lasciar asciugare il vetrino a temperatura ambiente (15-30°C).

10.2.4 Aggiunta del mezzo di montaggio

Aggiungere una goccia di mezzo di montaggio al centro di ogni pozzetto e porvi un vetrino corpioggetto, controllando che non vi siano bolle d'aria.

10.2.5 Lettura dei vetrini

Esaminare tutta l'area del pozzetto che contiene il campione colorato utilizzando il microscopio a epifluorescenza. Come descritto nella sezione 11, la fluorescenza è visibile con un ingrandimento 200x-500x. (Per ottenere ottimi risultati, esaminare i vetrini immediatamente dopo la colorazione, in ogni

caso i vetrini possono essere conservati a 2-8°C per 72 ore.)

11. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

11.1. CONTROLLI

11.1.1 Vetrino di controllo positivo

Quando colorato e visualizzato, come descritto nella sezione 10, il vetrino del controllo positivo deve mostrare cellule con fluorescenza verde mela a livello intracellulare, nucleare e/o citoplasmatico rispetto a un background rosso di materiale colorato con il colorante di contrasto. I vetrini del controllo positivo devono essere utilizzati per controllare che la procedura di colorazione sia stata eseguita correttamente.

Questi vetrini sono preparati da ceppi di virus della parainfluenza in colture cellulari in monostrato e forniscono solo un controllo adeguato per la procedura del test e non per le fasi di processamento dei campioni. Queste ultime possono essere controllate utilizzando materiale clinico positivo.

11.1.2 Controllo negativo

I vetrini di controllo negativo devono essere preparati dalle cellule intatte non infettate in uso per la coltura e l'isolamento dei virus della parainfluenza. Queste cellule devono essere preparate e fissate, come descritto nella sezione 9.2, e colorate, come descritto nella sezione 10. Le cellule del vetrino di controllo negativo appaiono rosse con il colorante di contrasto blu Evans.

I vetrini preparati in questo modo forniscono solo il controllo adeguato per la procedura del test e non per le fasi di processamento dei campioni. Queste ultime possono essere controllate utilizzando materiale clinico negativo.

11.2. CAMPIONI CLINICI

11.2.1 Aspetto delle cellule infettate con il virus della parainfluenza

Nelle cellule dell'epitelio del tratto respiratorio infettate con il virus della parainfluenza si osserva la fluorescenza granulare verde mela a livello intracellulare, nucleare e/o citoplasmatico.

Le cellule non infettate appaiono rosse con il colorante di contrasto blu Evans.

11.2.2 Interpretazione dei risultati

La diagnosi è positiva quando una o più cellule del campione fissato mostrano la fluorescenza specifica, descritta nella sezione 11.2.1 con il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Group o con uno degli IMAGEN Parainfluenza virus type 1, 2 and 3 reagents. Il risultato deve essere interpretato come positivo per l'antigene del virus della parainfluenza.

La diagnosi è negativa quando i campioni fissati e colorati non mostrano la fluorescenza né con il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Group né con uno dei reagenti IMAGEN Parainfluenza virus types 1, 2 and 3. Il risultato deve essere interpretato come negativo per l'antigene del virus della parainfluenza, deve seguire la conferma con coltura.

Per i campioni di aspirati nasofaringei colorati direttamente, si devono osservare almeno 20 cellule dell'epitelio respiratorio non infettate per poter refertare un risultato negativo. Consultare la sezione 11.2.3, se è presente un numero di cellule insufficiente.

11.2.3 Numero di cellule insufficiente

Se sul vetrino vi è un numero di cellule insufficiente, ciò che rimane del campione clinico deve essere centrifugato a 380g per 10 minuti a temperatura ambiente (15-30°C). Risospendere in un volume minore di PBS prima della ridistribuzione (25µL) sulle aree dei pozzetti. In alternativa può essere richiesto un nuovo campione clinico.

11.3. CONFERMA CON COLTURA CELLULARE E TIPIZZAZIONE

11.3.1 Aspetto delle cellule infettate con il virus della parainfluenza

Le cellule infettate che mostrano fluorescenza verde mela a livello intracellulare, nucleare e/o citoplasmatico devono essere refertate come positive per il virus della parainfluenza.

Le cellule non infettate che appaiono rosse con il colorante di contrasto blu Evans devono essere riportate come negative per il virus della parainfluenza.

11.3.2 Interpretazione dei risultati

La diagnosi è positiva quando una o più cellule del campione fissato e colorato mostrano il tipico pattern di fluorescenza, descritto nella sezione 11.3.1 con il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Group o con uno degli IMAGEN Parainfluenza virus type 1, 2 and 3 reagents. Per poter riportare un risultato negativo, si devono osservare in ogni pozzetto del vetrino almeno 50 cellule non infettate della coltura cellulare da testare. Consultare la sezione 11.2.3, se è presente un numero di cellule insufficiente.

11.3.3 Controllo di qualità

I controlli positivo e negativo devono essere colorati ed esaminati in ogni occasione in cui sono utilizzati i reagenti IMAGEN Parainfluenza per la determinazione della presenza del virus della parainfluenza nelle colture cellulari infettate.

I vetrini del controllo positivo forniti devono essere utilizzati per controllare che la procedura di colorazione sia stata eseguita correttamente e che il reagente reagisca in modo adeguato con le cellule infettate dal virus della parainfluenza. Sono disponibili altri vetrini di controllo positivo Oxoid, (codice n. S6111).

Inoltre si devono controllare i reagenti e la tecnica utilizzando uno striscio di cellule del controllo negativo eseguito con le colture cellulari non inoculate (non infettate) del tipo utilizzato per l'isolamento dei virus della parainfluenza.

Qualora il numero di cellule osservato nel pozzetto del vetrino da testare o del controllo negativo sia insufficiente (minore di 50), centrifugare ciò che rimane del campione della coltura cellulare a 200g per 10 minuti a temperatura ambiente (15-30°C) e risospendere in un volume minore (circa 50 µL) di PBS. Porre 25 µL di sospensione cellulare su ogni pozzetto singolo e processare come descritto nelle sezioni 9 e 10.

Se, utilizzando sia il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Group sia il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Typing, si ottengono risultati negativi con i 3 singoli reagenti e un risultato positivo con il reagente group, si devono preparare altri strisci cellulari e il test deve essere ripetuto. In alternativa prima di ripetere il test di immunofluorescenza, far crescere la coltura cellulare per amplificare la quantità di virus e il numero di cellule infettate presenti.

12. LIMITAZIONI DELLA PRESTAZIONE

12.1. Utilizzare solo il mezzo di montaggio fornito.

12.2. A volte si osserva della colorazione non specifica come artefatto a causa del legame tra le regioni Fc dell'anticorpo e l'antigene della proteina A presente nella parete cellulare di alcuni ceppi di *Staphylococcus aureus*. I reagenti del test IMAGEN Parainfluenza virus sono stati modificati per ridurre il legame alla proteina A del ceppo Cowan 1 di *Staphylococcus aureus*. Comunque l'anticorpo utilizzato nel reagente Parainfluenza virus type 1 può mostrare una reazione crociata molto debole con la proteina A dello *Staphylococcus aureus*. Lo *Staphylococcus aureus* può essere presente in campioni clinici e quindi essere inoculato nella coltura cellulare, dove si deve inibire la sua replicazione mediante agenti antimicrobici. Lo *Staphylococcus aureus* appare come tetrade o cluster a grappolo di cocci (ognuno di circa 1 µm di diametro) e generalmente è a livello extracellulare, mentre la caratteristica colorazione granulare è a livello intracellulare nelle colture cellulari infettate con virus della parainfluenza.

12.3. Il tipo e la condizione della strumentazione utilizzata influenzano l'aspetto visivo dell'immagine ottenuta. La reazione di end point può variare a causa del tipo di microscopio utilizzato, della sorgente luminosa, dell'età del bulbo, del sistema e dello spessore dei filtri, delle differenze in sensibilità del substrato dell'antigene e della procedura di analisi utilizzata. Ogni laboratorio deve stabilire i propri criteri di lettura degli end point, utilizzando dei controlli adeguati.

12.4. La non rilevazione del virus della parainfluenza nella coltura cellulare può dipendere da fattori, quali la raccolta inadeguata, il campionamento e/o la manipolazione del campione scorretti, il fallimento della coltura cellulare, ecc. Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da virus della parainfluenza.

12.5. Sia il reagente IMAGEN Parainfluenza Group sia l'IMAGEN Parainfluenza Typing reagiscono con gli antigeni del virus della parainfluenza presenti nelle cellule infettate. Un risultato positivo, comunque, non indica la presenza di virus della parainfluenza vitali.

12.6. Gli anticorpi monoclonali utilizzati nei reagenti IMAGEN™Parainfluenza Group e IMAGEN Parainfluenza Typing sono stati preparati contro ceppi prototipo del virus della parainfluenza, quindi non sono in grado di rilevare tutte le varianti antigeniche o i nuovi ceppi del virus della parainfluenza.

12.7. La variazione antigenica degli epitopi bersaglio degli anticorpi monoclonali presenti nei test IMAGEN Parainfluenza Group e Typing possono generare nuove varianti antigeniche non riconoscibili da parte degli anticorpi.

12.8. La prevalenza dell'analita influisce sul valore predittivo del saggio.

12.9. L'aspetto visivo dell'immagine fluorescente ottenuta dipende dal tipo di microscopio e sorgente luminosa utilizzati.

12.10. Si consiglia di utilizzare 25µL di reagente per coprire l'area del pozzetto che è pari a un diametro di 6mm. Una riduzione di tale volume può impedire la copertura dell'area del campione e può ridurre la sensibilità.

12.11. Tutti i reagenti sono forniti a concentrazioni di lavoro fisse. Qualora i reagenti siano modificati in qualsiasi modo o non conservati secondo le condizioni consigliate, la prestazione del test può risultarne alterata.

12.12. I risultati del test devono essere interpretati con le informazioni disponibili dagli studi epidemiologici, la valutazione clinica del paziente e altre procedure diagnostiche.

13. VALORI ATTESI

La frequenza di isolamento dei virus della parainfluenza può variare in base al tipo di test utilizzato, al metodo, al tempo e al sito di prelievo del campione, alla manipolazione, alla conservazione e al trasporto dei campioni. Inoltre dipende anche dalle frequenze di prevalenza della popolazione, come anche dell'età, dalla posizione geografica e dalla condizione socioeconomica della popolazione analizzata.

I virus della parainfluenza tipo 1, 2 e 3 sono prevalenti in tutto il mondo e sono associati alle infezioni del tratto respiratorio nei climi temperati, tropicali e artici.[10] La maggioranza delle infezioni colpisce i bambini con età inferiore a 5 anni, nei quali questi virus sono responsabili del 20% delle infezioni del tratto respiratorio e del 30-40% dei casi di croup.[11,12]

Oltre il 90% dei neonati sperimenta un'infezione primaria da virus della parainfluenza e fino al 50% infezioni sintomatiche successive.[2]

I virus della parainfluenza mostrano frequenze di prevalenza elevate durante le epidemie stagionali delle infezioni del tratto respiratorio. Nelle zone temperate i virus della parainfluenza sono più comunemente associati alle epidemie autunnali e invernali.[13,14] In alcuni paesi le epidemie delle infezioni del virus della parainfluenza tipo 3 si verificano in primavera e in estate.[3]

Le più alte frequenze di infezione si osservano nei bambini con età compresa tra 1 e 5 anni. Le infezioni e le reinfezioni nei bambini più grandi e negli adulti generalmente sono associate ai sintomi respiratori più lievi.

I virus della parainfluenza sono implicati nelle epidemie delle infezioni del tratto respiratorio negli ospedali e in particolar modo nei reparti pediatrici e geriatrici, dove sono stati correlati a un aumento della morbilità e della mortalità.[6]

Durante l'inverno del 1994-1995 l'incidenza totale del virus della parainfluenza sulla base dei risultati dell'isolamento virale presso un centro di sperimentazione era del 12,5% (21/168) per il virus della parainfluenza di tipo 1, dell'1,8% (3/168) per il virus della parainfluenza di tipo 2 e del 14,3% (24/168) per il virus della parainfluenza di tipo 3. Queste cifre non rappresentano accuratamente la prevalenza del virus della parainfluenza nella popolazione totale, poiché i campioni sono stati prelevati da una popolazione selezionata per la ricerca delle infezioni del tratto respiratorio.

14. CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

14.1. STUDI CLINICI

14.1.1 Campioni diretti

I test IMAGEN Parainfluenza virus Group e IMAGEN Parainfluenza virus 1, 2 and 3 Typing sono stati valutati per l'uso diretto su secrezioni nasofaringee in 3 centri, uno negli Stati Uniti e 2 nel Regno Unito. I campioni diretti sono stati raccolti durante l'inverno del 1994-1995.

La sperimentazione clinica è stata condotta utilizzando campioni di aspirati nasofaringei da pazienti con infezioni respiratorie sospette da virus, raccolti e processati come descritto nelle sezioni 9.1.1. I vetrini fissati con acetone sono stati testati sia freschi (conservati a 2-8°C e testati entro 3 giorni) sia congelati e testati successivamente. Il metodo standard (di riferimento) era un test di immunofluorescenza indiretto disponibile e l'isolamento e

l'identificazione virale.

Un campione era considerato positivo con i reagenti IMAGEN Parainfluenza virus Group o IMAGEN Parainfluenza virus types 1, 2 and 3, se una o più cellule dell'epitelio respiratorio mostravano il tipico pattern di fluorescenza, descritto nella sezione 11.2.1.

14.1.2 Conferma con coltura cellulare

I test IMAGEN Parainfluenza virus Group e IMAGEN Parainfluenza virus 1, 2 and 3 Typing sono stati valutati in sperimentazioni cliniche in 4 centri nel Regno Unito. Le sperimentazioni cliniche sono state intraprese nel periodo di luglio-ottobre 1991. Durante questo periodo l'incidenza totale di virus della parainfluenza in un centro della sperimentazione era del 14,4% (15/104) per il virus della parainfluenza 1 e dell'8,7% (9/104) per il virus della parainfluenza 3. Queste cifre non rappresentano accuratamente la prevalenza del virus della parainfluenza nella popolazione totale, poiché i campioni sono stati prelevati da una popolazione selezionata per la ricerca delle infezioni del tratto respiratorio. Gli studi sono stati eseguiti su campioni preparati da colture cellulari in monostrato inoculate con campioni clinici prelevati da pazienti con sospetta infezione da virus della parainfluenza. I metodi standard per l'identificazione del virus della parainfluenza nelle colture cellulari erano i test di neutralizzazione o l'immunofluorescenza indiretta. Gli IMAGEN Parainfluenza virus reagents sono stati testati anche per la reattività crociata contro un ampio numero di microrganismi generalmente presenti nei campioni clinici routinari (consultare la sezione 14.3).

14.2. PRESTAZIONE CLINICA

14.2.1 Campioni diretti

Sono stati testati 222 campioni da pazienti con sospette infezioni respiratorie da virus con il test IMAGEN Parainfluenza virus Group e il test IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3. In un centro negli Stati Uniti nordorientali durante l'inverno del 1994-1995 sono stati raccolti 184 campioni da pazienti pediatrici e valutati al fine di determinare la sensibilità e la specificità del test. La maggioranza dei campioni sono stati testati in confronto all'isolamento virale e un piccolo numero in confronto al test di immunofluorescenza indiretto di riferimento.

La tabelle 14.1 e 14.2 mostrano i risultati del centro statunitense. Nei 2 centri britannici è stata valutata una selezione di campioni, noti per contenere il virus della parainfluenza, per aumentare il numero di campioni positivi ottenuti. Questi risultati sono mostrati nelle tabelle 14.3 e 14.4. Nelle tabelle 14.5 e 14.6 sono mostrati i risultati che confrontano le frequenze di positività per i virus della parainfluenza in tutti i centri.

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3)
Nel centro statunitense il test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) mostrava una correlazione del 97,6% contro la coltura virale e del 98,4% contro il test di immunofluorescenza indiretta di riferimento. La sensibilità e la specificità relativa del test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) erano del 97,9% e del 97,5% rispettivamente, se confrontato con l'isolamento virale. Se confrontato con il test di immunofluorescenza indiretta di riferimento, la sensibilità e la specificità relativa erano del 96,2% e del 99,0%, rispettivamente.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 1
Nel centro statunitense il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Type 1 mostrava una correlazione, sensibilità e specificità del 100%, se confrontato con l'isolamento virale e il test di immunofluorescenza di riferimento.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 2
Nel centro statunitense il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Type 2 mostrava una correlazione, sensibilità e specificità del 100%, se confrontato con l'isolamento virale e il test di immunofluorescenza di riferimento.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 3
Nel centro statunitense il reagente IMAGEN Parainfluenza virus Type 3 mostrava una correlazione del 97,6% e una sensibilità e specificità del 91,6% e del 98,6% rispettivamente, se confrontato con l'isolamento virale. Se confrontato con il test di immunofluorescenza indiretta di riferimento, la correlazione, la sensibilità e la specificità erano del 98,4%, del 75% e del 99,1%, rispettivamente.

Tabella 14.1 Confronto tra le prestazioni degli IMAGEN Parainfluenza virus reagents e dell'isolamento virale sugli aspirati nasofaringei nel centro statunitense

			IMAGEN™ Parainfluenza virus reagents	
IMAGEN Parainfluenza virus reagent	N.di campioni testati	N. di campioni positivi con l'isolamento virale	Sensibilità	Specificità
Parainfluenza 1 (Intervalli di confidenza al 95%)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Parainfluenza 2 (Intervalli di confidenza al 95%)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Parainfluenza 3 (Intervalli di confidenza al 95%)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)
Parainfluenza Group (Intervalli di confidenza al 95%)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)

Tabella 14.2 Confronto tra gli IMAGEN Parainfluenza virus reagents e l'immunofluorescenza di riferimento sugli aspirati nasofaringei nel centro statunitense

			IMAGEN Parainfluenza virus reagents	
IMAGEN Parainfluenza virus reagent	N. di campioni testati	N. di campioni positivi con l'immuno-fluorescenza di riferimento	Sensibilità relativa	Specificità relativa
Parainfluenza 1 (Intervalli di confidenza al 95%)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Parainfluenza 2 (Intervalli di confidenza al 95%)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Parainfluenza 3 (Intervalli di confidenza al 95%)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Parainfluenza Group (Intervalli di confidenza al 95%)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Nota: "relativa" si riferisce al confronto tra i risultati di questo saggio con quelli di un test simile. Non era un tentativo di correlazione tra i risultati del test e la presenza o assenza della malattia. Non è possibile basarsi sull'accuratezza del saggio per predire la malattia.

Tabella 14.3 Confronto tra le prestazioni degli IMAGEN Parainfluenza virus reagents e l'isolamento virale su aspirati nasofaringei in 2 centri britannici

Isolamento virale **Reagente IMAGEN**		**Pos Pos**	**Neg Neg**	**Pos Neg**	**Neg Pos**
Parainfluenza 1	n = 35	3	31	0	1**
Parainfluenza 2	n = 35	2	32	1*	0
Parainfluenza 3	n = 35	27	7	1*	0
Parainfluenza Group	n = 35	30	0	4***	1**

* Entrambi i campioni negativi anche con l'immunofluorescenza di riferimento.
** Questo campione era positivo anche con l'immunofluorescenza di riferimento.
*** Due di questi campioni erano negativi anche con l'immunofluorescenza di riferimento.

Tabella 14.4 Confronto tra le prestazioni degli IMAGEN Parainfluenza reagents e l'immunofluorescenza di riferimento su aspirati nasofaringei in 2 centri britannici

Immunofluorescenza di riferimento **Reagente IMAGEN**		**Pos Pos**	**Neg Neg**	**Pos Neg**	**Neg Pos**
Parainfluenza 1	n = 38	3	35	0	0
Parainfluenza 2	n = 38	3	35	0	0
Parainfluenza 3	n = 38	30	8	0	0
Parainfluenza Group	n = 38	34	2	2*	0

* È stato riportato che 1 campione conteneva poche cellule.

Tabella 14.5 Confronto tra le frequenze di positività per il virus della parainfluenza con gli IMAGEN Parainfluenza reagents e l'isolamento virale su aspirati nasofaringei in tutti i centri

Reagente IMAGEN™	**Numero rilevato con l'isolamento virale**	**Numero rilevato con IMAGEN™**	**% Concordanza**
Parainfluenza 1	24	24	100%
Parainfluenza 2	6	5	83,3%
Parainfluenza 3	52	49	94,2%
Parainfluenza Group	82	77	93,9%

Tabella 14.6 Confronto tra le frequenze di positività per il virus della parainfluenza con gli IMAGEN Parainfluenza reagents e l'immunofluorescenza di riferimento su aspirati nasofaringei in tutti i centri

Reagente IMAGEN	**Numero rilevato con l'immunofluorescenza di riferimento**	**Numero rilevato con IMAGEN™**	**% Concordanza**
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 Conferma con coltura cellulare

IMAGEN Parainfluenza virus Group
Il test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) mostrava una correlazione del 98,3% con i metodi standard (Tabella 14.7). La sensibilità e la specificità relativa del test erano del 98,3% e del 98,5%, rispettivamente.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3
Le sensibilità relative per i singoli virus della parainfluenza di tipo 1, 2 e 3 erano del 96,1%, del 100% e del 97,4%, rispettivamente. Le specificità relative per i singoli virus della parainfluenza di tipo 1, 2 e 3 erano del 99,3%, del 99,7% e del 98,4%, rispettivamente.

Tabella 14.7 Confronto tra gli IMAGEN Parainfluenza virus reagents e i metodi standard per la conferma con coltura cellulare

IMAGEN Parainfluenza virus reagent	**N. campioni testati**	**N. di campioni positivi con i metodi standard**	**IMAGEN Parainfluenza virus reagents[a]**	
			Sensibilità relativa	Specificità relativ[a]
Parainfluenza 1 (Intervalli di confidenza al 95%)	322	51	96,1% (49/51) (86,5% - 99,5%)	99,3% (269/271) (97,4% - 99.9%)
Parainfluenza 2 (Intervalli di confidenza al 95%)	315	24	100% (24/24) (85,8% - 100%)	99,7% (290/291) (98,1% - 100%)
Parainfluenza 3 (Intervalli di confidenza al 95%)	345	155	97,4% (151/155) (93,5% - 99,3%)	98,4% (187/190) (95,5% - 99.7%)
Parainfluenza Group (Intervalli di confidenza al 95%)	363	229	98,3% (225/229) (95,6% - 99,5%)	98,5% (132/134) (94,7% - 99,8%)

[a] I risultati da uno dei 4 centri della sperimentazione includono una percentuale di campioni congelati.
[b] Gli IMAGEN Parainfluenza virus reagents hanno rilevato 2 ceppi di tipo 1 e 1 ceppo di tipo 3, che non sono stati individuati con i metodi standard.

14.3. REATTIVITÀ CROCIATA

I microrganismi elencati nella tabella 14.8 sono stati testati con i test IMAGEN Parainfluenza virus Group and the IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 e non hanno mostrato reattività crociata. Gli studi di reattività crociata sono stati realizzati su preparazioni di vetrini di colture madri o recenti isolati microbici.

Tabella 14.8 Organismi testati con tutti gli IMAGEN Parainfluenza virus reagents e trovati non reattivi

Microrganismo	**Fonte**	**N.di campioni testati**
Acholeplasma laidlawii	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10116*	*1*
Adenovirus tipo 1	*Coltura cellulare*	*9*
Adenovirus tipo 2	*Coltura cellulare*	*5*
Adenovirus tipo 3	*Coltura cellulare*	*8*
Adenovirus tipo 4	*Coltura cellulare*	*3*
Adenovirus tipo 5	*Coltura cellulare*	*4*
Adenovirus tipo 7	*Coltura cellulare*	*3*
Adenovirus tipo 10	*Coltura cellulare*	*1*
Adenovirus tipo 41	*Coltura cellulare*	*1*
Bordetella parapertussis	*Coltura cellulare*	*1*
Bordetella pertussis	*Terreno di coltura*	*1*
Branhamella catarrhalis	*Terreno di coltura*	*1*
Candida albicans	*Terreno di coltura*	*1*
Chlamydia pneumoniae	*Coltura cellulare e terreno di coltura*	*1 di ognuno*
Chlamydia psittaci	*Coltura cellulare*	*2*
Chlamydia trachomatis	*Coltura cellulare*	*2*
Cowpox virus	*Coltura cellulare*	*1*
Coxsackie virus tipo A7	*Coltura cellulare*	*1*
Coxsackie virus tipo A9	*Coltura cellulare*	*1*
Coxsackie virus tipo B3	*Coltura cellulare*	*3*
Coxsackie virus tipo B4	*Coltura cellulare*	*1*
Coxsackie virus tipo B5	*Coltura cellulare*	*2*
Cytomegalovirus	*Coltura cellulare*	*2*
Echovirus tipo 5	*Coltura cellulare*	*1*
Echovirus tipo 11	*Coltura cellulare*	*1*
Echovirus tipo 19	*Coltura cellulare*	*2*
Echovirus tipo 30	*Coltura cellulare*	*4*
Epstein Barr virus	*Linea di coltura cellulare continua*	*1*
Escherichia coli	*Terreno di coltura*	*1*
Foamy virus	*Coltura cellulare*	*1*

Microrganismo	Fonte	N.di campioni testati
Haemophilus influenzae	*Terreno di coltura e deposito di espettorato*	*1 di ognuno*
Herpes simplex virus tipo 1	*Coltura cellulare*	*3*
Herpes simplex virus tipo 2	*Coltura cellulare*	*2*
Virus dell'influenza tipo A	*Coltura cellulare*	*2*
Virus dell'influenza tipo B	*Coltura cellulare*	*2*
Klebsiella pneumoniae	*Terreno di coltura*	*1*
Legionella pneumophila	*Terreno di coltura*	*1*
Measles virus	*Coltura cellulare*	*3*
Mumps virus	*Coltura cellulare*	*8*
Mycobacterium avium	*Terreno di coltura*	*1*
Mycobacterium intracellulare	*Terreno di coltura*	*1*
Mycobacterium tuberculosis	*Terreno di coltura*	*1*
Mycoplasma arginini	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10129*	*1*
Mycoplasma hominis	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10111*	*1*
Mycoplasma hyorhinus	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10130*	*1*
Mycoplasma orale	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10112*	*1*
Mycoplasma pneumoniae	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10119*	*1*
Mycoplasma salivarium	*Deposito di brodo di coltura NCTC 10113*	*1*
Neisseria cinerea	*Terreno di coltura*	*1*
Neisseria flavescens	*Terreno di coltura*	*1*
Neisseria gonorrhoeae	*Terreno di coltura*	*1*
Neisseria lactamica	*Terreno di coltura*	*1*
Neisseria meningitidis A, B, C & D	*Terreno di coltura*	*1 di ognuno*
Neisseria mucosa	*Terreno di coltura*	*1*
Neisseria perflava	*Terreno di coltura*	*1*
Neisseria pharyngis	*Terreno di coltura*	*1*
Parainfluenza virus 4a	*Coltura cellulare*	*2*
Pneumocystis carinii	*Campione clinico*	*1*
Polio virus type 1	*Coltura cellulare*	*1*
Polio virus type 2	*Coltura cellulare*	*2*
Polio virus type 3	*Coltura cellulare*	*3*
Respiratory syncytial virus	*Coltura cellulare*	*8*
Rhinovirus	*Coltura cellulare*	*6*
Sendai virus	*Coltura cellulare*	*1*
Streptococcus groups A, B, C, D, F and G	*Terreno di coltura*	*1 di ognuno*
Streptococcus pneumoniae	*Deposito di espettorato*	*1*
Varicella zoster virus	*Coltura cellulare*	*2*

15. BIBLIOGRAFIA

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.
    Epidemiolgy and Infection **99**: 523-531

CE

X7849 Revisione Febbraio 2013

REF K610411-2, ∑ 50 tests

K610311-2 ∑ 50 tests

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Regno Unito

Per ogni richiesta contattare la filiale distributore