

IMAGEN

PARAINFLUENZA VIRUS

TYPES 1, 2 AND 3

REF	K610311-2 K610411-2		CS
------------	------------------------	---	-----------

Přímý imunofluorescenční test pro detekci viru parainfluenzy 1, 2 a 3.

1. POUŽITÍ

IMAGEN™ Parainfluenza jsou testovací soupravy pro kvalitativní přímou imunofluorescenční detekci a rozlišení virů parainfluenzy typu 1, 2 a 3 přímo z nasofaryngeálního aspirátu nebo z buněčných kultur. Soupravy se dodávají ve dvou formách.

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) (Kód K6103) pro detekci a potvrzení přítomnosti antigenů viru parainfluenzy přímo v nasofaryngeálním aspirátu a v preparátech z buněčné kultury.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (Kód K6104) pro detekci a rozlišení jednotlivých antigenů virů parainfluenzy typu 1, 2 a 3 přímo v nasofaryngeálním aspirátu a v preparátech z buněčných kultur.

Negativní výsledek získaný po přímém obarvení v nasofaryngeálním aspirátu je nutné považovat za předběžný až do uzavření výsledku kultivace na tkáňové kultuře.

2. SOUHRNNÉ INFORMACE

Virus parainfluenzy je součástí rodu paramyxovirů, které patří do čeledi Paramyxoviridae.¹ Člověka podle dosavadních poznatků může infikovat šest druhů paramyxovirů, mezi něž patří virus parainfluenzy 1, 2, 3 a 4 (podtypy 4a a 4b), virus spalniček a virus Newcastle Disease. Ze 4 virů parainfluenzy se v současnosti za hlavní příčinu infektů akutního respiračního onemocnění u kojenců a malých dětí považují typy 1, 2 a 3.^{2,3}

Viry parainfluenzy se šíří přímým kontaktem nebo vdechnutím kapének obsahujících virus, vylučovaných symptomatically pacienti z dýchacích cest. Nosní sekret může obsahovat vysoké koncentrace viru. Virus se množí v řasinkovém cylindrickém epitelu horních a dolních dýchacích cest a způsobuje nekrózu a odlučování těchto buněk. Virus se vylučuje od prvního dne před vznikem příznaku až do 7 dnů po začátku příznaků. U pacientů s oslabenou imunitou může vylučování viru trvat déle.^{4,5}

Virus parainfluenzy typ 1, 2 a 3 může infikovat a způsobovat onemocnění horních i dolních dýchacích cest. Většina infekcí způsobených parainfluenzou se klinicky projeví jako akutní laryngotracheobronchitida (krup) u kojenců a dětí. Infekce viry parainfluenzy se však mohou projevovat také jako tracheobronchitida, bronchitida, pneumonie a dále řadou příznaků spojených s horními dýchacími cestami.

Infekce virem parainfluenzy může někdy u kojenců probíhat závažným způsobem a způsobovat neprůchodnost dýchacích cest a dechovou tíseň, což může zvyšovat nemocnost i úmrtnost u pacientů s jinou závažnou nemocí, například cystickou fibrózou, nebo u pacientů s narušenou imunitou.

Virus parainfluenzy je spojován s epidemiemi infekcí dýchacích cest na dětských i geriatrických odděleních, což způsobuje prodloužení hospitalizace a zvyšuje nemocnost i úmrtnost.⁶ Rychlá diagnostika je důležitá při léčbě pacientů i při kontrole epidemického šíření.

V současnosti jsou hlavními diagnostickými metodami používány při stanovení diagnózy infekcí virem parainfluenzy izolace a identifikace na jednovrstvé buněčné kultuře nebo přímá detekce viru v klinickém vzorku.

Po izolaci viru v buněčné kultuře je nutné pro identifikaci viru provádět další testování, neutralizaci, inhibiční hemaglutinaci nebo vyšetření elektronovou mikroskopií. Tyto testy jsou náročné na práci i čas a vyžadují vysoký stupeň odbornosti a technické zručnosti, která nemusí být v řadě laboratoří dostupná.

V poslední době byly popsány nepřímé imunofluorescenční testy využívající pro identifikaci a potvrzení virů parainfluenzy v jednovrstvé buněčné kultuře nebo přímo v klinickém vzorku polyklonální nebo monoklonální protilátky.^{7,8,9} Přímé testy s monoklonálními protilátkami značenými fluoresceinem nabízejí rychlejší a specifičtější způsob detekce virů v klinických vzorcích nebo buněčných kulturách.

Souprava IMAGEN™ Parainfluenza virus je přímým imunofluorescenčním testem, určeným pro detekci a identifikaci virů parainfluenzy typ 1, 2 a 3 přímo v nasofaryngeálním aspirátu nebo v buněčné kultuře. Tento test využívá k detekci i identifikaci virů parainfluenzy typu 1, 2 a 3 typově specifické monoklonální protilátky.

3. PRINCIP TESTU

Testovací soupravy IMAGEN Parainfluenza virus obsahují fluorescein izotiokyanát (FITC), konjugovaný s monoklonálními protilátkami, které se váží specificky na viry parainfluenzy typ 1, 2 a nebo 3. Používají se v jednostupňové technice přímé imunofluorescence. Vzorky se inkubují s činidly konjugovanými s FITC po dobu 15 minut. Nadbytek činidel je poté odstraněn promytím fosfátem pufovaným fyziologickým roztokem (PBS). Obarvené oblasti jsou poté zpracovány jako trvalé preparáty a prohlédnuty pod epifluorescenčním osvětlením. V případě přítomnosti virů parainfluenzy typu 1, 2 a nebo 3 se v infikovaných buňkách objeví charakteristická jablkově zelená intracelulární fluorescence, která kontrastuje s červeným pozadím neinfikovaných buněk.

Poděkování

V těchto testech jsou použity monoklonální protilátky, připravené v Department of Respiratory and Enteric Viruses, Public Health Services, Centre for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.

4. DEFINICE

V informaci o výrobku byly použity následující symboly.

REF	Kód výrobku a katalogové číslo
	Viz návod k použití
	Lze použít pro <n> testů
	Výrobce
IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek
	Použitelné do

LOT	Číslo šarže
	Teplotní rozmezí od - do

5. DODÁVANÁ ČINIDLA

 50 - Každá souprava obsahuje množství dostatečné pro vyšetření 50 preparátů buněčných kultur.

 - Doba použitelnosti soupravy je vyznačena na štítku na zevním obalu.

5.1. DODÁVANÁ ČINIDLA IMAGEN™ PARAINFLUENZA VIRUS

 **POSITIVE CONTROL SLIDE**

Návod k použití

2 x tříjamková sklička s pozitivní kontrolou obsahující buňky opičích ledvin African Green fixované acetonem (Veros), infikované virem parainfluenzy typu 1, 2 nebo 3 (kmen CDC V6-004, resp. CDC V7-003, resp. CDC V5-003).

3mL kapaliny pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů. Kapalina pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů obsahuje inhibitor bělicího účinku světla (“fotobleaching”) v roztoku glycerolu (pH 10,0).

Po jedné lahvičce následujících činidel:

ČINIDLA IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS GROUP – K6103

REAGENT G	1,4mL činidla IMAGEN Parainfluenza virus typ 1, 2 a 3. Toto činidlo se skládá ze směsi tří purifikovaných myších monoklonálních protilátek specifických pro virus parainfluenzy typ 1, 2 a 3, konjugovaných s FITC, rozpuštěných v proteinem stabilizovaném fosfátem pufovaném fyziologickým roztoku , který obsahuje Evansovu modř jako kontrastní barvivo. Monoklonální protilátky jsou zaměřeny proti proteinu F parainfluenzy 1, proteinu hemaglutininu parainfluenzy 2 a proteinu hemaglutininu parainfluenzy 3.
------------------	---

NEBO

ČINIDLA IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS TYP 1, 2 A 3 - K6104

REAGENT 1	1,4mL činidla IMAGEN Parainfluenza virus 1. Toto činidlo se skládá z purifikované myší monoklonální protilátky specifické pro virus parainfluenzy typ 1 (zaměřené proti proteinu F parainfluenzy 1), konjugované s FITC, naředěné v proteinem stabilizovaném fosfátem pufovaném fyziologickým roztoku , který obsahuje Evansovu modř jako kontrastní barvivo.
------------------	---

REAGENT 2	1,4mL činidla IMAGEN Parainfluenza virus 2. Toto činidlo se skládá z purifikované myší monoklonální protilátky specifické pro virus parainfluenzy typ 2 (cílené proti hemaglutininu parainfluenzy 2), konjugované s FITC, rozpuštěné v proteinem stabilizovaném fosfátem pufovaném fyziologickým roztoku , který obsahuje Evansovu modř jako kontrastní barvivo.
------------------	--

REAGENT 3	1,4mL činidla IMAGEN Parainfluenza virus 3. Toto činidlo obsahuje purifikovanou myší monoklonální protilátku specifickou pro virus parainfluenzy typ 3 (cílenou proti bílkovině hemaglutininu parainfluenzy 3) konjugovanou na FITC rozpuštěnou v proteinem stabilizovaném fosfátem pufovaném fyziologickým roztoku, který obsahuje Evansovu modř jako kontrastní barvivo.
------------------	--

5.2. PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A OPAKOVANÉ POUŽITÍ SOUČÁSTÍ VYŠETŘOVACÍ SOUPRAVY

Pro zajištění optimální funkce soupravy je důležité, aby byly všechny nepoužité složky testovací soupravy skladovány podle následujících pokynů.

5.3. SKLIČKA S POZITIVNÍ KONTROLOU - POSITIVE CONTROL SLIDE

Sklička s pozitivní kontrolou se dodávají jednotlivě zabalená v plastickém sáčku vyplněném dusíkem. Nepoužitá sklička skladujte při teplotě 2–8°C. Sklička je před otevřením třeba ponechat při pokojové teplotě (15–30°C) po dobu 5 minut.

Skličko je nutné obarvit bezprostředně po otevření.

5.4. KAPALINA PRO PŘÍPRAVU TRVALÝCH MIKROSKOPICKÝCH PREPARÁTŮ - MOUNTING FLUID

Připravená k použití. Nepoužitou kapalinu pro přípravu trvalých preparátů skladujte při teplotě 2–8°C. Kapalinu pro přípravu trvalých preparátů je třeba před použitím ponechat v pokojové teplotě (15–30°C) po dobu 5 minut.

5.5. ČINIDLA, SKUPINA 1, 2 A 3 - REAGENT G/REAGENT 1/REAGENT 2/REAGENT 3

Připravená k použití. Nepoužitá činidla skladujte v temnu při teplotě 2–8°C. Činidla je třeba před použitím ponechat v pokojové teplotě (15–30°C) po dobu 5 minut.

6. POTŘEBNÁ DALŠÍ ČINIDLA A VYBAVENÍ

6.1. ČINIDLA

Čerstvý aceton (pro fixaci).

Fosfátem pufovaný fyziologický roztok (PBS) o pH 7,5 na promývání obarvených vzorků a pro přípravu vzorků.

6.2. DOPLŇKY

Pro použití se soupravami K6103 a K6104 jsou určeny následující výrobky. Podrobnější informace získáte od jejího distributora.

Teflonem potažená skleněná mikroskopická sklička s jednou jamkou o průměru 6mm (100 sklíček v jednom balení) lze získat od místní jejího distributora (Kód S61114).

Positive Control Slides (Kód S6111).

7. VYBAVENÍ

Dále je zapotřebí následující vybavení.

Přesná pipeta s jednorázovými špičkami o objemu 25μL.

Promývací lázeň.

Krycí sklička vhodná pro překrytí jamky o průměru 6mm.

Nefluorescenční imerzní olej.

Epifluorescenční mikroskop s filtrovacím systémem pro FITC (maximální excitací vlnová délka 490nm, průměrná emisní vlnová délka 520nm) a s 200 až 500 násobným zvětšením.

Inkubátor s teplotou 37°C.

Nízkorychlostní centrifuga.

Pro přímé vzorky

Odsávačka hlenů.

Pro kultivační potvrzení

Sterilní štětičky, transportní médium pro virové kultury (VTM) a nádoba vhodná pro odběr, transport a kultivaci viru parainfluenzy. Informace týkající se použití vhodných VTM jsou uvedeny v odkazu 13 v oddíle 13 (lze vyžádat od místního zastoupení společnosti Oxoid).

Linie buněčných kultur doporučené pro kultivaci a izolaci virů parainfluenzy.

Negativní kontrolní sklička připravená z neinfikovaných intaktních buněk stejného typu, který je použit pro kultivaci a izolaci viru parainfluenzy. Buňky by měly být připraveny a fixovány tak, jak je uvedeno v oddíle 9.1, a obarveny podle pokynů v oddíle 10.

8. UPOZORNĚNÍ

IVD - *In vitro* diagnostikum. Osoby provádějící toto vyšetření musí být proškoleny v použití této metody a musí mít zkušenost s laboratorní prací.

8.1. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

8.1.1 Činidla IMAGEN Parainfluenza obsahují jedovatý azid sodný (<0.1%). Azid sodný může reagovat s mědi a olovem ve vodovodním a odpadním systému a vytvářet výbušné kovové azidy. Odpad obsahující azid sodný likvidujte vždy spláchnutím velkým množstvím vody.

8.1.2 Bylo prokázáno, že virus parainfluenzy na skličku s pozitivní kontrolou je v buněčné kultuře neinfekční. Přesto je třeba se sklíčkem zacházet jako s potenciálně infekčním a tak jej i likvidovat.

8.1.3 Barvivo Evans blue je přítomno v činidle. Přestože přítomná koncentrace v produktu je pod hranicí označení jako karcinogenní, je třeba zabránit kontaktu s pokožkou.

8.1.4 Při používání produktu Mounting Fluid je třeba dbát opatrnosti, jelikož obsahuje složky dráždivé pokožku. Přestože přítomná koncentrace v produktu je pod hranicí označení jako dráždilo, je třeba opláchnout pokožku vodou, dojde-li ke kontaktu.

8.1.5 Na určeném pracovním místě nejzte, nepijte, nekuřte, neskladujte a nepřipravujte jídlo a nepoužívejte kosmetické přípravky.

8.1.6 Materiál nepipetujte ústy.

8.1.7 Při manipulaci s klinickým materiálem a infikovanými buňkami používejte jednorázové ochranné rukavice a po práci s infekčním materiálem si vždy umyjte ruce.

8.1.8 Všechny klinické vzorky likvidujte v souladu s místními právními předpisy.

8.1.9 Bezpečnostní list (BL) je profesionálním uživatelům k dispozici na vyžádání .

8.2. TECHNICKÁ OPATŘENÍ

8.2.1 Součásti soupravy nelze používat po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na štítku. Nesměšujte ani nezaměňujte různé šarže činidel.

8.2.2 Činidla se dodávají v pevně stanovených pracovních koncentracích. Průběh vyšetření může být nepříznivě ovlivněn, pokud jsou činidla dále upravována nebo

skladována za podmínek jiných než jak je uvedeno v oddíle 5.

8.2.3 Činidla pro určení jednotlivých typů virů nelze slučovat ani použít společně v jedné jamce, neboť tak může být nepříznivě narušen výsledek vyšetření.

8.2.4 Čerstvý fosfátem pufovaný fyziologický roztok (PBS) připravujte v den použití.

8.2.5 Promývání v PBS je nezbytné. Použití jiných promývacích roztoků, např. vody z vodovodu nebo destilované vody, zkreslí výsledky testu.

8.2.6 Zabraňte mikrobiální kontaminaci činidel.

8.2.7 Činidla se nesmí zmrazovat.

9. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Odběr a příprava vzorků má při diagnostice virů parainfluenzy v buněčné kultuře zásadní důležitost. Vzorky je třeba odebírat v místě infekce v době nejvyššího vylučování virů tak, aby obsahovaly co nejvíce infikovaného materiálu. Z dýchacích cest se doporučuje odebrat nasofaryngeální aspirát (NPA), který by měl poskytnout velké množství buněk epitelu dýchacích cest.

9.1. KLINICKÉ VZORKY

9.1.1 Nasofaryngeální aspirát/sekret

Odběr

Vzorek se odebírá z oblasti nosohltanu do odsávačky hlenů s hadičkou o velikosti 8. Odsávačka s hadičky se uchovávají při teplotě 2–8°C a co nejdříve odesílají do laboratoře pro zpracování.

Separace buněk

V případě potřeby přidejte ke vzorku před centrifugací 2mL fosfátem pufovaného fyziologického roztoku (PBS), abyste snížili viskozitu hlenů a naředili jej. Odsávačku centrifugujte při pokojové teplotě (15–30°C) po dobu 10 minut při 380g. Odstraňte supernatant, který lze použít pro tkáňovou kultivaci. Buněčný sediment rozpustíte ve 2mL PBS a šetrně pipetujete buňky nahoru a dolů pipetou o velkém průměru nebo použijte vortexovou míchačku, dokud nedojde k rozrušení hlenů a uvolnění buněčného materiálu. Pipetování/míchání je nutné provádět šetrně, aby nedošlo k poškození buněk. Po vzniku hladké suspenze přidejte další PBS podle potřeby a pipetujte nebo míchejte po přidání dalšího PBS k dalšímu promytí buněk. V tomto okamžiku odstraňte a zlikvidujte všechny viditelné částičky hlenů. Nadbytečný hlen je třeba odstranit, neboť by mohl zabraňovat dostatečné penetraci činidel a mohl by způsobovat nespecifickou fluorescenci.

Pokud veškerý sekret zůstává v odsávací hadičce a žádný se nedostane do odsávačky, vypláchněte všechn sekret z hadičky do PBS. Toho se nejlépe dosáhne zavedením Pasteurovy pipety na konec hadičky, který byl připojen k odsávačce. Poté opakovaně nasávejte příslušnou tekutinu do hadičky a opět ji vystřikujte ven, dokud sekret ulpívající na stěně hadičky nebude vyplaven. Pipetujte suspenzi do pipety a ven, dokud nedojde k náležitému rozrušení hlenů.

Příprava sklíček

Po dokončení separace buněk centrifugujte výslednou buněčnou suspenzi při pokojové teplotě (15–30°C) po dobu 10 minut při 380g a supernatant zlikvidujte. Resuspendujte buněčný sediment v dostatečném množství PBS. Naředíte tím zbytky hlenů, ale zároveň uchováte vysokou hustotu buněk. Ze sedimentu resuspendovaných buněk odeberte 25µL a umístěte je do jamky o průměru 6 mm na skličku.

Pro IMAGEN Parainfluenza virus Group test (kód K6103) je potřeba jedna jamka. Pro IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2

a 3 test (kód K6104) jsou zapotřebí tři jamky.

Nechte vzorky vyschnout na vzduchu při pokojové teplotě (15–30°C) a fixujte je čerstvým acetonem při pokojové teplotě (15–30°C) po dobu 10 minut. Pokud vzorek okamžitě neobarvíte, skladujte jej při teplotě -70°C až do vyšetření. Skladovaná sklička je nutné vyšetřit do dvou týdnů od přípravy, neboť při delším skladování může dojít k jejich poškození.

9.2. POTVRZENÍ A URČENÍ TYPU BUNĚČNÝCH KULTUR

Inokulace buněčných kultur

Vzorky získané pro diagnostiku infekcí způsobených virem parainfluenzy se inokulují do buněčných linií používaných v laboratoři rutinně podle zavedených laboratorních metod. Buněčné kultury je nutné pravidelně vyhodnocovat, zda-li se neobjevuje cytopatický efekt (CPE), a souběžně provádět hemadsorpční testy. Všechny kultury s pozitivní hemadsorpcí nebo buněčné kultury prokazující CPE je nutné sklídit a vyšetřit na přítomnost viru parainfluenzy.

Příprava sklíček

Za použití sterilní pipety stáhněte buněčnou vrstvu do kultivačního média. Sedimentujte buňky odstředěním při 200g po dobu 10 minut při pokojové teplotě (15–30°C) a supernatant odstraňte.

Propíchlňte buňky resuspenzí buněčného sedimentu v PBS a centrifugaci opakujte. Odstraňte supernatant a resuspendujte buněčný sediment v malém množství (75–100µL na jednu kultivační zkumavku) čerstvě připraveného PBS pro zachování vysoké koncentrace buněk.

Napipetujte do každé jamky na skličku po 25µL buněčné suspenze.

Pro test IMAGEN Parainfluenza virus Group je potřeba jedna jamka (Kód K6103).

Pro test IMAGEN Parainfluenza virus typ 1, 2 a 3 jsou zapotřebí tři jamky (Kód K6104).

Sklička nechte zaschnout na vzduchu a fixujte je v čerstvém acetonu při pokojové teplotě (15 – 30°C) po dobu 10 minut. Pokud není vzorek okamžitě obarven, lze jej skladovat přes noc při teplotě 4°C nebo při teplotě –20°C při delší době skladování. Skladovaná sklička je třeba vyšetřit do dvou týdnů od přípravy, neboť při delším skladování může dojít k jejich poškození.

10. POSTUP TESTU

PŘED PROVÁDĚNÍM VLASTNÍHO TESTU PROSTUDUJTE ODDÍL 8.2 TECHNICKÁ OPATŘENÍ.

O provedení testu IMAGEN Parainfluenza virus Group (Kód K6103) pojednává oddíl 10.1 a o provedení testu IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1, 2 a 3 (Kód K6104) pojednává oddíl 10.2.

10.1. IMAGEN™ PARAINFLUENZA VIRUS GROUP - K6103

10.1.1 Přidání činidla

K fixovanému buněčnému preparátu, skličku s pozitivní a skličku s negativní kontrolou přidejte 25µL činidla G (viz oddíl 9.1). Ujistěte se, že činidlo pokrývá celou plochu jamky.

10.1.2 První inkubace

Inkubujte sklička s činidlem ve **vlhké komůrce** po dobu **15 minut** při teplotě **37°C**. **Nedovolte**, aby činidlo na vzorku zaschlo, neboť to povede k nespecifickému obarvení.

10.1.3 Promytí sklíček

Přebytek činidla vymyjte fosfátem pufovaným fyziologickým roztokem (PBS) a šetrně sklíčko promývejte v třepací lázni

obsahující PBS po dobu 5 minut. Vylijte PBS a nechte skličko uschnout na vzduchu při pokojové teplotě (15–30°C).

10.1.4 Přidání kapaliny pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů

Přidejte jednu kapku kapaliny pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů doprostřed každé jamky a přiložte přes ni a vzorek krycí skličko tak, aby tam nezůstaly žádné vzduchové bubliny.

10.1.5 Odečítání sklíček

Vyšetřete celou oblast jamky obsahující obarvený vzorek za použití epifluorescenčního mikroskopu. Fluorescenci takovou, jaká je popsána v oddíle 11, je možné vidět při 200 až 500 násobném zvětšení. (Nejllepší výsledky získáte při vyšetření sklíček bezprostředně po obarvení, avšak lze je skladovat ve tmě při teplotě 2–8°C až po dobu 72 hodin.)

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

10.2.1 Přidání činidla

Do první jamky přidejte 25µL činidla 1, do druhé jamky 25µL činidla 2 a do třetí jamky 25µL činidla 3 k fixovanému buněčnému preparátu (viz oddíl 9.1) a ke sklíčkům s pozitivní a negativní kontrolou. Ujistěte se, že činidlo pokrývá celou plochu jamky.

10.2.2 První inkubace

Inkubujte sklička s činidly ve **vlhké komůrce** po dobu **15 minut** při teplotě **37°C**. **Nedovolte**, aby činidlo na vzorku zaschlo, neboť to povede k nespecifickému obarvení.

10.2.3 Promytí sklíček

Přebytek činidla vymyjte fosfátem pufovaným fyziologickým roztokem (PBS) a šetrně skličko promývejte v třepací lázni obsahující PBS po dobu 5 minut. Vylijte PBS a nechte skličko uschnout na vzduchu při pokojové teplotě (15–30°C).

10.2.4 Přidání kapaliny pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů

Přidejte jednu kapku kapaliny pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů doprostřed každé jamky a přiložte přes ni a vzorek krycí skličko tak, aby tam nezůstaly žádné vzduchové bubliny.

10.2.5 Odečítání sklíček

Vyšetřete celou oblast jamky obsahující obarvený vzorek za použití epifluorescenčního mikroskopu. Fluorescence je popsána v oddíle 11 a je viditelná při 200 až 500 násobném zvětšení. (Nejllepší výsledky získáte při vyšetření sklíček bezprostředně po obarvení, avšak lze je skladovat ve tmě při teplotě 2–8°C až po dobu 72 hodin.)

11. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ VYŠETŘENÍ

11.1. KONTROLY

11.1.1 Skličko s pozitivní kontrolou

Po obarvení a prohlédnutí popsaném v oddíle 10 by skličko s pozitivní kontrolou mělo ukazovat buňky s intracelulární jadernou a/nebo cytoplasmatickou jablkově zelenou fluorescencí vystupující proti červenému pozadí kontrastního barviva. Pozitivní kontroly se používají pro kontrolu úspěšného provedení procesu obarvení.

Tato sklička se připravují z kmenů virů parainfluenzy na jednovrstvé buněčné kultuře a zajišťují dostatečnou kontrolu nad provedením vyšetření, nikoliv nad jednotlivými kroky zpracování vzorku.

Postup zpracování vzorku se kontroluje za použití pozitivního klinického materiálu.

11.1.2 Negativní kontrola

Sklička s negativní kontrolou je nutné připravovat z neinfikovaných intaktních buněk stejného typu, který se používá v buněčné kultuře při izolaci virů parainfluenzy. Tyto buňky se připravují a fixují způsobem popsaným v oddíle 9.2 a barví se tak, jak je popsáno v oddíle 10. Buňky na skličku s negativní kontrolou se barví červeně Evansovou modří.

Sklička připravená tímto způsobem pouze zajistí dostatečnou kontrolu provedení testu, a nikoliv kontrolu jednotlivých kroků zpracování vzorků. Jednotlivé kroky zpracování vzorku se kontrolují za použití negativního klinického materiálu.

11.2. KLINICKÉ VZORKY

11.2.1 Vzhled buněk infikovaných virem parainfluenzy

Epiteliální buňky dýchacích cest infikované virem parainfluenzy ukazují nitrobuněčnou, jadernou a/nebo cytoplasmatickou granulární jablkově zelenou fluorescenci.

Neinfikované buňky se barví červeně kontrastním barvením Evansovou modří.

11.2.2 Interpretace výsledků

Pozitivní diagnóza je stanovena, pokud jedna nebo více buněk ve fixovaném a obarveném vzorku prokazuje specifickou fluorescenci popsanou v oddíle 11.2.1 při použití činidla IMAGEN Parainfluenza virus Group nebo jednoho z individuálních činidel IMAGEN™ Parainfluenza virus Typ 1, 2 a 3. Výsledek je třeba interpretovat jako pozitivní na přítomnost antigenu virů parainfluenzy.

Negativní diagnóza se stanoví, když fixovaný obarvený vzorek nevykazuje fluorescenci při dodání činidla IMAGEN Parainfluenza virus Group ani jednotlivých činidel IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1, 2 a 3. Výsledek je třeba interpretovat jako negativní na přítomnost antigenů viru parainfluenzy s tím, že se čeká na výsledek kultivace.

U přímo obarvených vzorků nasofaryngeálního aspirátu je předtím, než se stanoví negativní výsledek, nutné vyšetřit nejméně 20 neinfikovaných buněk respiračního epitelu. Pokud na skličku není dostatečný počet buněk, prostudujte oddíl 11.2.3.

11.2.3 Nedostatečné množství buněk

Pokud na skličku není přítomno dostatečné množství buněk, stočí se zbytek klinického vzorku v centrifuze při 380g po dobu 10 minut za pokojové teploty (15–30°C). Před opakovaným rozplněním do jamek se vzorek resuspenduje v menším objemu PBS (25μL). Druhou možností je vyžádat si opakovaný odběr klinického vzorku.

11.3. POTVRZENÍ A URČENÍ TYPU BUNĚČNÝCH KULTUR

11.3.1 Vzhled buněk infikovaných virem parainfluenzy

Infikované buňky vykazují intracelulární, jadernou a/nebo cytoplasmatickou jablkově zelenou fluorescenci a výsledek by měl být interpretován jako pozitivní na parainfluenzu.

Neinfikované buňky se barví červeně Evansovou modří a hodnotí se jako negativní na parainfluenzu.

11.3.2 Interpretace výsledků

Pozitivní diagnóza je stanovena, pokud jedna nebo více buněk ve fixovaném obarveném vzorku ukazuje typický fluorescenční vzorec popsaný v oddíle 11.3.1 při použití činidla IMAGEN Parainfluenza virus Group nebo jednoho z individuálních činidel

IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1, 2 a 3. Před stanovením závěru negativního výsledku je třeba na každé jamce na skličku nalézt nejméně 50 neinfikovaných buněk z buněčné kultury. Pokud na skličku není dostatečný počet buněk, prostudujte oddíl 11.2.3.

11.3.3 Kontrola jakosti

Pozitivní a negativní kontroly se Parainfluenza pro stanovení přítomnosti viru parainfluenzy v infikovaných buněčných kulturách.

Dodaná sklička s pozitivní kontrolou slouží jako vhodná kontrola pro stanovení správného provedení barvicí techniky a reaktivity činidla u buněk infikovaných virem parainfluenzy. Další sklička s pozitivní kontrolou lze objednat od společnosti Oxoid, (Kód S6111).

Činidla a techniky se také kontrolují za použití negativní kontroly, což je nátěr buněk získaný z neinokulované (neinfikované) buněčné kultury stejného typu, který se používá pro izolaci virů parainfluenzy.

V případě nedostatečného počtu buněk na skličku s testovaným vzorkem nebo negativní kontrolou (méně než 50) se zbytek vzorku buněčné kultury centrifuguje při 200g po dobu 10 minut za pokojové teploty (15–30°C) a resuspenduje v menším objemu PBS (přibližně 50μL). Poté se 25μL buněčné suspenze umístí do jednotlivých jamek a postupuje se podle pokynů uvedených v oddíle 9 a 10.

Pokud se použijí činidla IMAGEN Parainfluenza virus Group souběžně s typizačními činidly a při typizaci vyjdou tři negativní výsledky poté, co skupinová činidla vykázala pozitivní výsledek, je třeba připravit další buněčné nátěry a test zopakovat. Další možnosti je pasážování kultury pro amplifikaci množství viru a počtu infikovaných buněk a poté imuno fluorescenční vyšetření zopakovat.

12. OMEZENÍ VYŠETŘOVACÍ METODY

12.1. Použijte pouze kapalinu pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů dodávanou se soupravou.

12.2. V některých případech se jako artefakt imunochemických vyšetření objeví nespecifické obarvení v důsledku vazby mezi Fc oblastmi protilátky a antigenem proteinu A, který se vyskytuje v buněčné stěně některých kmenů *Staphylococcus aureus*. Činidla soupravy IMAGEN Parainfluenza virus jsou upravena tak, aby vazba na protein A kmene *Staphylococcus aureus* Cowan 1 byla snížena. Přesto však protilátky použité v činidle pro parainfluenza virus typ 1 mohou prokazovat velmi slabou zkříženou reaktivitu s proteinem A *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* se může v klinických vzorcích vyskytovat, a proto může být inokulován do buněčné kultury, kde by jeho replikace měla být inhibována protimikrobními látkami. *Staphylococcus aureus* se pod mikroskopem jeví jako tetrády nebo hroznovité shluky koků (každý o průměru 1μm) a vyskytují se spíše extracelulárně na rozdíl od charakteristického intracelulárního jemnéhoh granulárního obarvení, pozorovaného v buněčných kulturách infikovaných virem parainfluenzy.

12.3. Vzhled výsledné reakce ovlivní také typ a stav použitých nástrojů . Výsledný vzhled se může lišit v závislosti na typu použitého mikroskopu, na světelném zdroji, stáří zářivky, uspořádání filtru a jeho tloušťce, rozdílu v citlivosti antigenního substrátu a postupu použitého při provádění

testu. Každá laboratoř by si za použití příslušných kontrol měla stanovit vlastní kritéria pro odečítání výsledků.

12.4. K neodhalení viru parainfluenzy v buněčné kultuře může dojít v důsledku takových faktorů, jako například nesprávný odběr vzorku, nesprávné zpracování vzorku a manipulace s ním, selháníbuněčné kultury a tak dále. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce virem parainfluenzy.

12.5. Činidla IMAGEN Parainfluenza Group i typizační činidla reagují s antigenem viru parainfluenzy, který je přítomen v infikovaných buňkách. Pozitivní výsledek však není ukazatelem životaschopnosti přítomného viru parainfluenzy.

12.6. Monoklonální protilátky použité v činidle IMAGEN Parainfluenza Group i v typizačních činidlech jsou vyrobeny z prototypu kmene parainfluenzy. Tyto protilátky nemusí odhalit všechny antigenní varianty nebo nové kmeny viru parainfluenzy.

12.7. Antigenní proměnlivost epitopů cílených monoklonálními protilátkami obsaženými v testovací soupravě IMAGEN Parainfluenza Group a v typizační soupravě může vést ke vzniku nových antigenních variant, které tyto protilátky nemusejí rozpoznat.

12.8. Prevalence analytu ovlivní prediktivní hodnotu vyšetření.

12.9. Vzhled fluorescenčního obrazu může být různý v závislosti na typu použitého mikroskopu a světelného zdroje.

12.10. Pro překrytí jamky o průměru 6mm se doporučuje použít 25μL činidla. Menší objem činidla může vést k potížím při překrytí oblasti vzorku, a tím může snižovat senzitivitu vyšetření.

12.11. Všechna činidla se dodávají v pevně daných pracovních koncentracích. Výsledky vyšetření mohou být ovlivněny, pokud jsou činidla dále upravována jakýmkoli způsobem nebo pokud nejsou skladována za doporučených podmínek.

12.12. Výsledky testu je nutné interpretovat v souladu s informacemi dostupnými z epidemiologického vyšetření, zhodnocení klinického stavu pacienta a dalších diagnostických kroků.

13. PŘEDPOKLÁDANÉ HODNOTY

Četnost izolace viru parainfluenzy se může odlišovat v závislosti na typu použitého testu, metodě, čase a místě odběru vzorku, jeho zpracování, skladování a transportu. Také závisí na četnosti výskytu viru v populaci, například na věku, zeměpisné poloze a socioekonomickém postavení vyšetřované populace.

Virus parainfluenzy typ 1, 2 a 3 se vyskytuje po celém světě a je spojen s infekcemi dýchacích cest v mírném, tropickém i arktickém pásmu.¹⁰ Většina infekcí se vyskytuje u malých dětí do 5 let věku, u kterých má virus parainfluenzy na svědomí 20% infekcí dýchacích cest a 30–40% případů laryngitidy (krupu).^{11,12}

Primární infekce virem parainfluenzy se objeví u více než 90% malých dětí a až u 50% dětí může dojít k symptomatickým reinfekcím.²

Virus parainfluenzy vykazuje vysokou prevalenci během sezónních epidemií infekcí dýchacích cest. V mírném klimatickém pásmu je virus parainfluenzy nejčastěji spojen s epidemiemi v podzimních a zimních měsících.^{13,14} V některých zemích se epidemie virem parainfluenzy typ 3 objevují také na jaře a v létě.³

Nejčastěji jsou postiženy děti ve věku od 1 do 5 let. Infekce nebo

reinfekce starších dětí nebo dospělých jsou často provázeny mírnějšími respiračními příznaky.

Virus parainfluenzy bývá také identifikován při epidemickém výskytu infekcí dýchacích cest v nemocnicích, obzvláště na dětských odděleních a kolektivních zařízeních geriatrického zaměření, kde je spojován se zvýšenou nemocností i úmrtností.⁶

V zimě 1994–1995 byla celková četnost výskytu viru parainfluenzy v jednom zkušebním centru při hodnocení virových izolátů 12,5% (21/168) pro virus parainfluenzy typ 1, 1,8% (3/168) pro virus parainfluenzy typ 2 a 14,3% (24/168) pro virus parainfluenzy typ 3.

Tyto hodnoty však nejsou reprezentativní pro výskyt viru parainfluenzy v obecné populaci, neboť vzorky byly odebrány od vybrané populace pacientů vyšetřovaných pro infekce dýchacích cest.

14. SPECIFICKÉ FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY METODY

14.1. KLINICKÉ STUDIE

14.1.1 Přímé vzorky

Testy IMAGEN Parainfluenza virus Group a test IMAGEN Parainfluenza virus 1, 2 a 3 Typing byly hodnoceny pro přímé použití s nasofaryngeálními sekretem na třech pracovištích, jednom ve Spojených státech a dvou ve Velké Británii. Přímé vzorky byly odebrány v zimě 1994–1995.

Klinická studie byla provedena za použití vzorků nasofaryngeálního aspirátu od pacientů s podezřením na virové onemocnění dýchacích cest. Vzorky byly získány a zpracovány podle postupu uvedeného v oddíle 9.1.1. Acetonem fixovaná sklička byla vyšetřena buď okamžitě (skladovaná při teplotě 2–8°C a vyšetřena do 3 dnů) nebo zmrazena a vyšetřena později. Jako standardní (referenční) metody byly použity komerčně dostupné nepřímé imuno fluorescenční testy a virová izolace a identifikace.

Vzorek byl hodnocen jako pozitivní při použití činidel IMAGEN Parainfluenza virus Group nebo IMAGEN Parainfluenza virus typ 1, 2 a 3, pokud 1 nebo více buněk respiračního epitelu prokazovala typický vzorec fluorescence, popsaný v oddíle 11.2.1.

14.1.2 Potvrzení kultivací

Soupravy IMAGEN Parainfluenza virus Group a IMAGEN Parainfluenza virus 1, 2 a 3 Typing byly hodnoceny v klinických studiích ve čtyřech centrech ve Velké Británii. Klinické studie proběhly v období od července do října 1991. V této době byla celková četnost výskytu viru parainfluenzy v jednom zkušebním centru 14,4% (15/104) pro virus parainfluenzy 1 a 8,7% (9/104) pro virus parainfluenzy 3. Tyto hodnoty však nejsou reprezentativní pro výskyt viru parainfluenzy v obecné populaci, neboť vzorky byly odebrány od vybrané populace pacientů vyšetřovaných pro infekce dýchacích cest. Studie byly provedeny na vzorcích připravených z jednovrstvých buněčných kultur inokulovaných klinickými vzorky získanými od pacientů s podezřením na infekci virem parainfluenzy. Standardními metodami identifikace viru parainfluenzy byly buď neutralizační testy nebo nepřímá imuno fluorescence. Činidla soupravy IMAGEN Parainfluenza virus byla také vyšetřena na zkříženou reaktivitu proti řadě mikroorganismů, které se mohou vyskytovat v rutinních klinických vzorcích (viz oddíl 14.3).

14.2. KLINICKÉ VÝSLEDKY

14.2.1 Přímé vzorky

Testy IMAGEN Parainfluenza virus Group a IMAGEN Parainfluenza virus typ 1, 2 a 3 byly použity pro vyšetření celkem 222 vzorků od pacientů s podezřením na virové infekční onemocnění dýchacích

cest. Na jednom pracovišti na severovýchodě Spojených států bylo v zimě 1994–1995 získáno celkem 184 vzorků dětské populace a vyhodnoceno s cílem stanovit citlivost a specifičnost testu. Většina vzorků byla vyšetřena souběžně s izolací viru a menší počet byl srovnáván s referenční nepřímou imunofluorescencí. Výsledky z tohoto amerického pracoviště ukazují tabulky 14.1 a 14.2. Na dvou pracovištích ve Velké Británii byly hodnoceny vybrané vzorky se známým obsahem viru parainfluenzy s cílem zvýšit počet pozitivních vzorků. Tyto výsledky jsou uvedeny v tabulkách 14.3 a 14.4. Výsledky, které srovnávají počet výskytu pozitivitu viru parainfluenzy na všech pracovištích, jsou uvedeny v tabulkách 14.5 a 14.6.

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Typ 1, 2 a 3)
Na jednom americkém pracovišti prokázal test IMAGEN Parainfluenza virus Group (Typ 1, 2 a 3) korelaci 97,6% ve srovnání s virovou buněčnou kulturou a korelaci 98,4% ve srovnání s referenční nepřímou imunofluorescencí. Relativní citlivost a specifičnost testů IMAGEN Parainfluenza virus Group (Typ 1, 2 a 3) byla při srovnání s virovou izolací 97,9%, respektive 97,5%. Při srovnání s referenční nepřímou imunofluorescencí byla relativní citlivost 96,2% a specifičnost 99,0%.

IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1
Na americkém pracovišti prokázalo číidlo IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1 při srovnání s virovou izolací a referenční imunofluorescencí korelaci, citlivost a specifičnost 100%.

IMAGEN Parainfluenza virus Typ 2
Na americkém pracovišti prokázalo číidlo IMAGEN Parainfluenza virus Typ 2 při srovnání s virovou izolací a referenční imunofluorescencí korelaci, citlivost a specifičnost 100%.

IMAGEN Parainfluenza virus Typ 3
Na americkém pracovišti prokazovalo číidlo IMAGEN Parainfluenza virus Typ 3 při srovnání s virovou izolací korelaci 97,6%, citlivost 91,6% a specifičnost 98,6%. Při srovnání s referenční imunofluorescencí byla korelace 98,4%, citlivost 75% a specifičnost 99,1%.

Tabulka 14.1 Srovnání výsledků číidel IMAGEN Parainfluenza virus s virovou izolací nasofaryngeálního aspirátu na americkém pracovišti

Číidla IMAGEN Parainfluenza virus				
IMAGEN číidla-Parainfluenza virus	Počet vyšetřených vzorků	Počet vzorků pozitivních při virové izolaci	Citlivost	Specifičnost
Parainfluenza 1 (95% intervaly spolehlivosti)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Parainfluenza 2 (95% intervaly spolehlivosti)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Parainfluenza 3 (95% intervaly spolehlivosti)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)

Parainfluenza Group (95% intervaly spolehlivosti)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)
---	-----	----	-------------------------------	-----------------------------------

Tabulka 14.2 Srovnání výsledků číidel IMAGEN Parainfluenza virus s referenční imunofluorescencí u nasofaryngeálního aspirátu na americkém pracovišti

Číidla IMAGEN Parainfluenza virus				
IMAGEN číidla-Parainfluenza virus	Počet vyšetřených vzorků	Počet vzorků pozitivních při referenční imunofluorescenci	Relativní citlivost	Relativní specifičnost
Parainfluenza 1 (95% intervaly spolehlivosti)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Parainfluenza 2 (95% intervaly spolehlivosti)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Parainfluenza 3 (95% intervaly spolehlivosti)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Parainfluenza Group (95% intervaly spolehlivosti)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Poznámka: Pozor, slovo “relativní” se zde vztahuje ke srovnání výsledků vyšetření s vyšetřením podobnou metodou. Nelze z toho tedy vyvozovat žádné poznatky o přítomnosti nebo nepřítomnosti nemoci. Nelze také vyvozovat žádné závěry o přesnosti metody při predikci nemoci.

Tabulka 14.3 Srovnání výsledků číidel IMAGEN Parainfluenza virus s virovou izolací nasofaryngeálního aspirátu ve dvou britských centrech

Izolace viru	Pozit	Negat	Pozit	Negat
IMAGEN číidlo	Pozit	Negat	Negat	Pozit
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**

* Oba vzorky byly negativní také při vyšetření referenční imunofluorescencí.
** Tento vzorek byl pozitivní také při vyšetření referenční imunofluorescencí.
*** Dva z těchto vzorků byly negativní také při vyšetření referenční imunofluorescencí.

Tabulka 14.4 Srovnání výsledků číidel IMAGEN Parainfluenza s referenční imunofluorescencí nasofaryngeálního aspirátu ve dvou britských centrech

Referenční imunofluorescence	Pozit	Negat	Pozit	Negat
IMAGEN číidlo	Pozit	Negat	Negat	Pozit
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

* U jednoho vzorku bylo nedostatečné množství buněk.

Tabulka 14.5 Srovnání pozitivních výsledků číidel IMAGEN Parainfluenza virus s virovou izolací nasofaryngeálního aspirátu ve všech centrech

IMAGEN číidlo	Počet zachycený virovou izolací	Počet zachycený soupravou IMAGEN	% shody
Parainfluenza 1	24	24	100%
Parainfluenza 2	6	5	83,3%
Parainfluenza 3	52	49	94,2%
Parainfluenza Group	82	77	93,9%

Tabulka 14.6 Srovnání pozitivních výsledků číidel IMAGEN Parainfluenza virus s referenční imunofluorescencí nasofaryngeálního aspirátu ve všech centrech

IMAGEN číidlo	Počet pozitivních vzorků referenční imunofluorescencí	Počet zachycený soupravou IMAGEN	% shody
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 Potvrzení kultivací
IMAGEN Parainfluenza virus Group
Vyšetření pomocí IMAGEN Parainfluenza virus Group (Typy 1, 2 a 3) prokázalo při srovnání se standardními metodami korelaci 98,3% (Tabulka 14.7). Relativní citlivost vyšetření byla 98,3% a relativní specifičnost 98,5%.

IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1, 2 a 3
Relativní citlivost jednotlivých typizačních číidel pro parainfluenza virus typ 1 byla 96,1%, pro typ 2 byla 100% a pro typ 3 byla 97,4%. Relativní specifičnost jednotlivých typizačních číidel pro parainfluenza virus typ 1 byla 99,3%, pro typ 2 byla 99,7% a pro typ 3 byla 98,4%.

Tabulka 14.7 Srovnání číidel IMAGEN Parainfluenza virus se standardními metodami kultivačního potvrzení

IMAGEN Parainfluenza virus číidla	Počet testovaných vzorků	Počet pozitivních vzorků při testování standardními metodami	IMAGEN Parainfluenza virus - číidla*	Relativní specifičnost ^b
Parainfluenza 1 (95% intervaly spolehlivosti)	322	51	96,1% (49/51) (86,5% - 99,5%)	99,3% (269/271) (97,4% - 99,9%)
Parainfluenza 2 (95% intervaly spolehlivosti)	315	24	100% (24/24) (85,8% - 100%)	99,7% (290/291) (98,1% - 100%)
Parainfluenza 3 (95% intervaly spolehlivosti)	345	155	97,4% (151/155) (93,5% - 99,3%)	98,4% (187/190) (95,5% - 99,7%)
Parainfluenza Group (95% intervaly spolehlivosti)	363	229	98,3% (225/229) (95,6% - 99,5%)	98,5% (132/134) (94,7% - 99,8%)

^a Výsledky z jednoho ze čtyř zkušebních center zahrnují část zmrazených vzorků.
^b Číidla IMAGEN Parainfluenza virus detekovaly dva kmeny typu 1 a jeden kmen typu 3, které nebyly zachyceny za použití standardních metod.

14.3. ZKRÍŽENÁ REAKTIVITA
V tabulce 14.8 jsou uvedeny mikroorganismy, které při vyšetření soupravami IMAGEN Parainfluenza virus Group a IMAGEN Parainfluenza virus Typ 1, 2 a 3 neprokazovaly zkříženou reaktivitu. Studie zkřížené reaktivity byly provedeny na sklíčkových preparátech archivovaných kutur nebo čerstvých mikrobiálních izolátů.

Tabulka 14.8 Mikroorganismy vyšetřené všemi číidly souprav IMAGEN Parainfluenza virus, se kterými prokazatelně

Mikroorganismus	Zdroj	Počet vyšetřených vzorků
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	kultivační bujón NCTC 10116	1
<i>Adenovirus</i> typ 1	Buněčná kultura	9
<i>Adenovirus</i> typ 2	Buněčná kultura	5
<i>Adenovirus</i> typ 3	Buněčná kultura	8
<i>Adenovirus</i> typ 4	Buněčná kultura	3
<i>Adenovirus</i> typ 5	Buněčná kultura	4
<i>Adenovirus</i> typ 7	Buněčná kultura	3
<i>Adenovirus</i> typ 10	Buněčná kultura	1
<i>Adenovirus</i> typ 41	Buněčná kultura	1
<i>Bordetella parapertussis</i>	Buněčná kultura	1
<i>Bordetella pertussis</i>	Kultivační médium	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	Kultivační médium	1
<i>Candida albicans</i>	Kultivační médium	1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Buněčná kultura a kultivační médium	Po 1 od každého.
<i>Chlamydia psittaci</i>	Buněčná kultura	2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Buněčná kultura	2
<i>Virus vaccinie</i>	Buněčná kultura	1
<i>Coxsackie virus</i> typ A7	Buněčná kultura	1
<i>Coxsackie virus</i> typ A9	Buněčná kultura	1
<i>Coxsackie virus</i> typ B3	Buněčná kultura	3
<i>Coxsackie virus</i> typ B4	Buněčná kultura	1
<i>Coxsackie virus</i> typ B5	Buněčná kultura	2
<i>Cytomegalovirus</i>	Buněčná kultura	2
<i>Echovirus</i> typ 5	Buněčná kultura	1
<i>Echovirus</i> typ 11	Buněčná kultura	1
<i>Echovirus</i> typ 19	Buněčná kultura	2
<i>Echovirus</i> typ 30	Buněčná kultura	4
<i>Epstein Barrové virus</i>	Kontinuální buněčná kultivační linie	1
<i>Escherichia coli</i>	Kultivační médium	1
<i>Foamy virus</i>	Buněčná kultura	1
<i>Haemophilus influenzae</i>	Kultivační púdy a sputum	Po 1 od každého.
<i>Herpes simplex virus</i> typ 1	Buněčná kultura	3
<i>Herpes simplex virus</i> typ 2	Buněčná kultura	2
<i>Influenza virus</i> A	Buněčná kultura	2
<i>Influenza virus</i> B	Buněčná kultura	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kultivační médium	1
<i>Legionella pneumophila</i>	Kultivační médium	1
<i>Virus spalniček</i>	Buněčná kultura	3
<i>Virus příušnic</i>	Buněčná kultura	8
<i>Mycobacterium avium</i>	Kultivační médium	1
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Kultivační médium	1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Kultivační médium	1
<i>Mycoplasma arginini</i>	kultivační bujón NCTC 10129	1
<i>Mycoplasma hominis</i>	kultivační bujón NCTC 10111	1
<i>Mycoplasma hyorhinus</i>	kultivační bujón NCTC 10130	1
<i>Mycoplasma orale</i>	kultivační bujón NCTC 10112	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	kultivační bujón NCTC 10119	1
<i>Mycoplasma salivarium</i>	kultivační bujón NCTC 10113	1
<i>Neisseria cinerea</i>	Kultivační médium	1
<i>Neisseria flavescens</i>	Kultivační médium	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kultivační médium	1
<i>Neisseria lactamica</i>	Kultivační médium	1
<i>Neisseria meningitidis</i>	Kultivační médium	Po 1 od každého.
<i>A, B, C & D</i>		
<i>Neisseria mucosa</i>	Kultivační médium	1
<i>Neisseria perflava</i>	Kultivační médium	1
<i>Neisseria pharyngis</i>	Kultivační médium	1
<i>Parainfluenza virus</i> 4a	Buněčná kultura	2
<i>Pneumocystis carinii</i>	Klinický vzorek	1
<i>Polio virus</i> typ 1	Buněčná kultura	1
<i>Polio virus</i> typ 2	Buněčná kultura	2
<i>Polio virus</i> typ 3	Buněčná kultura	3
<i>Respirační syncytiální virus</i>	Buněčná kultura	8
<i>Rhinovirus</i>	Buněčná kultura	6
<i>Sendai virus</i>	Buněčná kultura	1

Mikroorganismus	Zdroj	Počet vyšetřených vzorků
<i>Streptococcus</i> , skupiny A, B, C, D, F a G	Kultivační médium	Po 1 od každého.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sputum	1
<i>Varicella zoster virus</i>	Buněčná kultura	2

15. LITERATURA

1. **Matthew, R.E.F. (1982)**
Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.
Intervirolology **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.



X7849 Revidované únor 2013



K610411-2,



50 tests



K610311-2



50 tests

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, Velká Británie

Se všemi dotazy se obraťte na místní distributora.