IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 AND 3

REF K610311-2 Σ 50

K610411-2 Σ 50

DE

Direkter Immunfloreszenztest zum Nachweis von **Parainfluenzavirus 1, 2 und 3**.

1. ZWECKBESTIMMUNG

IMAGEN™ Parainfluenza-Virus Testkits sind qualitative, direkte Immunfluoreszenztests zum Nachweis und zur Differenzierung von Parainfluenza Viren der Typen 1, 2 und 3 direkt in nasopharyngealen Absaugpräparaten oder in Zellkulturen. Die Kits sind in zwei Zusammenstellungen lieferbar:

IMAGEN **Parainfluenza Virusgruppe (Typ 1, 2 und 3)** Code-Nr. K6103 zum Nachweis und zur Bestätigung des Vorliegens von Parainfluenza Virus-Antigenen direkt in nasopharyngealen Absaugpräparaten und in Zellkulturpräparationen.

IMAGEN **Parainfluenza Virustypen 1, 2 und 3** Code–Nr. K6104 zum Nachweis und zur Differenzierung von Antigenen der Parainfluenza Viren Typ 1, 2 bzw. 3 direkt in nasopharyngealen Absaugpräparaten und in Zellkulturpräparationen.

Ein nach direkter Färbung nasopharyngealer Aspirate erzieltes negatives Ergebnis sollte als vorläufig betrachtet werden, bis es durch eine Kultur bestätigt wurde.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Parainfluenza Viren gehören zur Gattung Paramyxovirus und werden zur Familie der Paramyxoviridae gezählt.[1] Zu den 6 bekannten Human Paramyxovirus Spezies gehören Parainfluenza Viren Typ 1, 2, 3 und 4 (Subtypen 4a und 4b), Mumps Virus und Newcastle disease (ND)-Virus. Von den 4 Parainfluenza Virustypen wurden die Typen 1, 2 und 3 inzwischen als Hauptursachen akuter Atemwegserkrankungen bei Kleinkindern und Kindern nachgewiesen.[2,3]

Parainfluenza Viren werden durch direkten Kontakt oder Einatmung der virushaltigen Tröpfchen aus den Atemwegen symptomatischer Patienten übertragen. Nasensekrete können hohe Viruskonzentrationen enthalten. Das Virus vermehrt sich in den Zylinderzellen des Flimmerepithels der oberen und unteren Atemwege und verursacht Zellnekrosen und Nekrosenabstoßung. Die Freisetzung der Viren („Virus-Shedding“) erfolgt im Zeitraum von einem Tag vor bis zu 7 Tage nach Auftreten der Symptome. Bei immungeschwächten Patienten kann sie auch anhalten.[4,5]

Parainfluenza Viren Typ 1, 2 und 3 können zu Infektionen und Erkrankungen im gesamten Bereich der oberen und unteren Atemwege führen. Die meisten Parainfluenza Virusinfektionen bei Kleinkindern und Kindern manifestieren sich klinisch als akute Laryngotracheobronchitis (Krupp). Parainfluenza Virusinfektionen werden aber auch mit Tracheobronchitis, Bronchitis, Pneumonie und einer Reihe von Symptomen der oberen Atemwege assoziiert.

In Einzelfällen können Parainfluenza Virusinfektionen bei Kleinkindern sehr gravierend sein und Obstruktion der Atemwege und Atembeschwerden verursachen, was bei Patienten mit vorhandenen Erkrankungen wie zystischer Fibrose oder bei immungeschwächten Patienten zu erhöhten Erkrankungs und Sterblichkeitsraten führen kann.

In Kinderkrankenstationen und geriatrischen Abteilungen wurden Parainfluenza Viren mit Ausbrüchen von Infektionen der Atemwege assoziiert, die längere Krankenhausaufenthalte und erhöhte Erkrankungs und Sterblichkeitsraten zur Folge hatten.[6] Eine unverzügliche Diagnose ist für die Behandlung der Patienten und die Überwachung der Krankheitsausbrüche wichtig.

Die gegenwärtig bei der Labordiagnose von Parainfluenza Virusinfektionen hauptsächlich angewandten Methoden sind Isolierung und Identifikation in Einschicht Zellkulturen sowie der direkte Nachweis der Viren in klinischen Proben.

Anschließend an die Virusisolierung mittels Zellkulturverfahren müssen zur Virusidentifikation weitere Verfahren wie Neutralisationstests, Hämagglutinationshemmtests oder Elektronenmikroskopie angewandt werden. Diese Verfahren sind arbeits und zeitaufwendig und erfordern ein gewisses Maß an technischer Erfahrung, das in vielen Laboratorien möglicherweise nicht vorhanden ist.

In jüngster Zeit wurden indirekte Immunfluoreszenztests beschrieben, bei denen zur Identifikation und Bestätigung von Parainfluenza Viren in Einschicht Zellkulturen oder direkt in klinischen Proben polyklonale oder monoklonale Antikörper eingesetzt werden.[7,8,9] Direkte Immunfluoreszenztests, bei denen Fluorescein markierte monoklonale Antikörper zur Anwendung gelangen, bieten eine schnellere und spezifische Methode zum Nachweis von Viren in klinischen Proben oder Zellkulturen.

Die IMAGEN Parainfluenza Virus Testkits sind direkte Immunfluoreszenztests zum Nachweis und zur Identifikation von Parainfluenza Viren der Typen 1, 2 und 3 direkt in nasopharyngealen Absaugpräparaten oder Zellkulturen. In den Tests gelangen typspezifische monoklonale Antikörper zur Anwendung, um Parainfluenza Viren der Typen 1, 2 und 3 nachweisen und identifizieren zu können.

3. TESTPRINZIP

Der IMAGEN Parainfluenza Virus Testkit enthält mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC) konjugierte monoklonale Antikörper, die spezifisch an Parainfluenza Virus Typ 1, 2 oder 3 binden. Diese Reagenzien werden in einem direkten Einschritt Immunfluoreszenztest eingesetzt. Die Proben werden mit den FITC konjugierten Reagenzien 15 Minuten inkubiert. Anschließend wird überflüssiges Reagenz mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) abgewaschen. Die gefärbten Flächen werden eingedeckt und mit einem Epifluoreszenzmikroskop ausgewertet.

Falls Parainfluenza Viren des Typs 1, 2 oder 3 vorliegen, ist bei infizierten Zellen eine charakteristische, apfelgrüne, intrazelluläre Fluoreszenz zu beobachten, die im Kontrast zur roten Hintergrundfärbung nichtinfizierter Zellen steht.

Bestätigung

Die Herstellung der in diesen Tests verwendeten monoklonalen Antikörper erfolgte im Department of Respiratory and Enteric Viruses, Public Health Services, Centre for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.

4. DEFINITIONEN

Die nachfolgenden Symbole wurden überall in der Produktbeschreibung angewandt:

REF	Code- und Bestellnummer des Produkts
	Gebrauchsanweisung beachten
Σ N	Inhalt ausreichend für “n” Ansätze
	Hersteller
IVD	In-Vitro-Diagnostikum
	Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung
	Zulässiger Temperaturbereich

5. GELIEFERTE REAGENZIEN

Σ 50 - Jeder Testkit enthält ausreichend Reagenzien, um den Test an 50 Zellkulturpräparationen durchführen zu können.

- Die Haltbarkeit des Testkits ist auf dem äußeren Verpackungsetikett vermerkt.

5.1. LIEFERUMFANG DER IMAGENTM PARAINFLUENZA-VIRUS-REAGENZIEN

	Gebrauchsanweisung beachten
POSITIVE CONTROL SLIDE	2 x 3 positive Kontrollobjektträger mit Testarealen, die azetonfixierte Nierenzellen des afrikanischen grünen Affens (Vero-Zellen) infiziert mit Parainfluenza-Virus Typ 1, 2, bzw. 3 (vom CDC V6-004-Stamm, CDC V7-003-Stamm bzw. CDCV5-003 Stamm) enthalten.
MOUNTING FLUID	3mL Eindeckmedium. Das Eindeckmedium enthält einen Ausbleich-Hemmer in einer Glycerinlösung (pH 10,0).

Jeweils eine Flasche folgender Reagenzien:

IMAGEN PARAINFLUENZA-VIRUSGRRUPPEN-REAGENZIEN–K6103

REAGENT G	1.4mL IMAGEN Parainfluenza Virusgruppenreagenz (Typ 1, 2 und 3). Das Reagenz enthält eine Mischung aus 3 gereinigten, murinen, monoklonalen Antikörpern, die spezifisch für Parainfluenza Viren der Typen 1, 2 und 3, mit FITC konjugiert und in einer proteinstabilisierten phosphatgepufferten Kochsalzlösung verdünnt sind, die Evans Blau als Gegenfärbemittel enthält. Die monoklonalen Antikörper reagieren mit dem Parainfluenza 1 F-Protein, Parainfluenza 2 Hämagglutinin-Protein bzw. Parainfluenza 3 Hämagglutinin-Protein.

ODER

IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUSTYPEN REAGENZIEN FÜR DIE TYPEN 1, 2 UND 3 – K6104

REAGENT 1	1,4mL IMAGEN Parainfluenza Virus Typ 1 Reagenz. Das Reagenz besteht aus einem gereinigten, murinen, monoklonalen Antikörper, der spezifisch für Parainfluenza Virus Typ 1 (reagiert mit dem Parainfluenza 1 F-Protein), mit FITC konjugiert und in einer proteinstabilisierten phosphatgepufferten Kochsalzlösung verdünnt ist, die Evans Blau als Gegenfärbemittel enthält.
REAGENT 2	1,4mL IMAGEN Parainfluenza Virus Typ 2 Reagenz. Das Reagenz besteht aus einem gereinigten, murinen, monoklonalen Antikörper, der spezifisch für Parainfluenza Virus Typ 2 (reagiert mit dem Parainfluenza 2 Hämagglutinin Protein), mit FITC konjugiert und in einer proteinstabilisierten phosphatgepufferten Kochsalzlösung verdünnt ist, die Evans Blau als Gegenfärbemittel enthält.
REAGENT 3	1,4mL IMAGEN Parainfluenza Virus Typ 3 Reagenz. Das Reagenz besteht aus einem gereinigten, murinen, monoklonalen Antikörper, der spezifisch für Parainfluenza Virus Typ 3 (reagiert mit dem Parainfluenza 3 Hämagglutinin Protein), mit FITC konjugiert und in einer proteinstabilisierten phosphatgepufferten Kochsalzlösung verdünnt ist, die Evans Blau als Gegenfärbemittel enthält.

5.2. VORBEREITUNG, LAGERUNG UND WIEDERVERWENDUNG DER TESTKIT-KOMPONENTEN

Um eine optimale Leistungsfähigkeit der Testkits sicherzustellen, sollte für die Lagerung aller unverwendeten Testkit-Komponenten folgende Hinweise beachtet werden.

5.3. POSITIVE KONTROLLOBJEKTTRÄGER - POSITIVE CONTROL SLIDE

Die positiven Kontrollobjektträger werden einzeln versiegelt in mit Stickstoff gefüllten Folienhüllen geliefert. Unbenutzte Objektträger bei 2-8°C aufbewahren. Die Objektträger sollten vor dem Öffnen 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-30°C) in ihrer Folienhülle belassen werden.

Den Objektträger unmittelbar nach dem Öffnen anfärben.

5.4. EINDECKMEDIUM - MOUNTING FLUID

Gebrauchsfertig. Unbenutztes Eindeckmedium bei 2-8°C aufbewahren. Das Eindeckmedium sollte vor Gebrauch 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-30°C) belassen werden.

5.5. GRUPPENREAGENZIEN UND VIRUSTYPENREAGENZIEN FÜR DIE TYPEN 1, 2 und 3 - REAGENT G / REAGENT 1 / REAGENT 2 / REAGENT 3

Gebrauchsfertig. Unbenutzte Reagenzien bei 2-8°C aufbewahren. Die Reagenzien sollten vor Gebrauch 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-30°C) belassen werden.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND ERFORDERLICHES ZUBEHÖR

6.1. REAGENZIEN

Frisches Azeton (zur Fixierung).

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) pH 7,5 zum Waschen der gefärbten Proben und zur Probenvorbereitung.

6.2. ZUBEHÖR

Die folgenden Produkte sind für den Einsatz in Verbindung mit K6103 und K6104 bestimmt. Nähere Information dazu erhalten Sie von Ihrer zuständigen Ihrem Händler.

Teflonbeschichtete Mikroskop Objektträger aus Glas mit jeweils einem Testareal von 6 mm Durchmesser (100 Objektträger pro Behälter) sind bei der zuständigen Händler erhältlich (Code Nr. S6114).

Positive Kontrollobjektträger (Code Nr. S6111).

7. GERÄTE

Folgende Geräte sind erforderlich:

Präzisionspipette und Einweg-Pipettenspitzen, 25µL.

Waschtrog.

Deckgläser zum Eindecken eines Testareals mit 6mm Durchmesser.

Nicht fluoreszierendes Immersionsöl.

Epifluoreszenzmikroskop mit einem Filtersystem für FITC (maximale Erregerwellenlänge 490nm, mittlere Emissionswellenlänge 520nm) und 200 500fache Vergrößerung.

Inkubator für 37°C.

Niedertourige Zentrifuge.

Für direkte Absaugproben
Schleimabsauger.

Zum Zellkulturnachweis
Sterile Tupfer, Virus-Transportmedium (VTM), einen geeigneten Sammel-, Transport- und Kulturbehälter für Parainfluenza-Viren.

Nähere Hinweise über den Einsatz eines geeigneten VTM finden Sie unter Abschnitt 13 in Referenz 13 (erhältlich bei Ihrer zuständigen Oxoid-Niederlassung)

Zur Kultur und Isolierung von Parainfluenza Viren geeignete Zellkulturlinien.

Ein negativer Kontrollobjektträger, vorbereitet aus nicht infizierten, intakten Zellen des Typs, der für die Kultur und Isolierung von Parainfluenza Viren verwendet wird. Die Zellen sollten wie in Abschnitt 9.1 beschrieben vorbereitet und fixiert und wie in Abschnitt 8 beschrieben gefärbt werden.

8. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD - In-vitro-Diagnostikum. Personen, die Tests mit diesem Produkt durchführen, müssen in die Durchführung eingewiesen sein und über entsprechende Laborerfahrung verfügen.

8.1. SICHERHEITSMASSNAHMEN

8.1.1 IMAGEN Parainfluenza Virus Testreagenzien enthalten <0.1% Natriumazid. Natriumazid ist ein Gift, das mit Blei und Kupferleitungen reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallaziden führen kann. Nach der Entsorgung der azidhaltigen Materialien immer mit reichlich Wasser nachspülen.

8.1.2 Parainfluenza Viren auf den Kontrollobjektträgern haben sich in Zellkulturen nachweislich als nicht infektiös erwiesen; trotzdem sind sie als potentiell infektiös zu handhaben und zu entsorgen.

8.1.3 Das Reagenz enthält Evans-Blau. Obwohl die Konzentration unter der Menge liegt, die als karzinogen klassifiziert ist, sollte Hautkontakt vermieden werden.

8.1.4 Bei Verwendung des Eindeckmediums muss vorsichtig vorgegangen werden, da es ein bekanntes Hautreizmittel enthält. Obwohl es momentan unter der Konzentration liegt, laut der das Produkt als Hautreizmittel eingestuft wird, sollte die Haut doch mit Wasser abgespült werden, falls es zu Kontakt kommt.

8.1.5 Essen, Trinken, Rauchen, Aufbewahren und Zubereiten von Speisen sowie Schminken sind im bezeichneten Arbeitsbereich (Labor) verboten.

8.1.6 Reagenzien dürfen nicht mit dem Mund pipettiert werden.

8.1.7 Beim Hantieren mit klinischen Proben und infizierten Zellen immer Einweghandschuhe tragen und nach dem Umgang mit infektiösen Stoffen immer die Hände waschen.

8.1.8 Alle klinischen Proben entsprechend den örtlich geltenden Vorschriften entsorgen.

8.1.9 Das Sicherheitsdatenblatt kann auf Anfrage professionellen Benutzern zur Verfügung gestellt werden.

8.2. TECHNISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

8.2.1 Die Testkit-Komponenten dürfen nach Ablauf des auf den Etiketten vermerkten Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden. Keine Reagenzien von verschiedenen Chargen mischen oder austauschen.

8.2.2 Die Reagenzien werden in festgelegten Arbeitskonzentrationen geliefert. Der Testerfolg kann beeinträchtigt werden, wenn die Reagenzien verändert oder unter anderen Bedingungen als den in Abschnitt 5 genannten aufbewahrt werden.

8.2.3 Typisierungs Reagenzien dürfen nicht gepoolt oder zusammen auf demselben Testareal eines Objektträgers verwendet werden, da sonst die Leistungsfähigkeit des Tests nachteilig beeinflußt werden könnte.

8.2.4 Frische phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) am Tag der Verwendung der Reagenzien nach Bedarf zubereiten.

8.2.5 Für den Waschvorgang muß PBS verwendet werden. Andere Waschlösungen wie etwa Leitungs- oder destilliertes Wasser gefährden die Testergebnisse.

8.2.6 Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden.

8.2.7 Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren werden.

9. GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Gewinnung und Vorbereitung der Proben sind bei der Diagnose von Parainfluenza Viren mittels Zellkultur Methoden von grundlegender Bedeutung. Die Proben müssen vom Infektionsgebiet und während des Höhepunkts des Virus-Shedding gewonnen werden, so dass sie möglichst viel infiziertes Material enthalten. Die geeignetste Testprobe ist nasopharyngeales Absaugsekret (NPA), in dem sich möglichst viele Atemwegs Epithelzellen befinden.

9.1. KLINISCHE PROBEN

9.1.1 Nasopharyngeale Aspirate und Sekrete

Sammlung
Sammeln Sie die Proben aus der nasopharyngealen Region in einem Schleimabsauger - durch eine Absaugsonde der Größe 8. Der Schleimabsauger- und die Sonde sollten auf einer Temperatur von 2-8°C gehalten werden und so schnell wie möglich zur Weiterverarbeitung in ein Labor gebracht werden.

Zell-Separation
Falls nötig fügen Sie vor der Zentrifugation 2mL phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) zur Probe hinzu, um die Viskosität zu reduzieren und den Schleim zu verdünnen. Zentrifugieren Sie den Schleimabsauger bei Raumtemperatur (15-30°C) 10 min bei 380g. Nehmen Sie den Überstand ab, dieser kann für Zellkultur verwendet werden. Resuspendieren Sie die pelletierten Zellen in 2mL PBS, und pipettieren Sie die Zellen vorsichtig mit einer weiten Pipette auf und ab oder vortexen sie sehr vorsichtig, bis der Schleim zerfällt und zelluläres Material freigesetzt wird.

Vermeiden Sie heftiges Pipettieren, damit die Zellen nicht beschädigt werden. Sobald eine glatte Zellsuspension vorliegt, fügen Sie nach Bedarf mehr PBS hinzu, und pipettieren oder vortexen Sie anschließend, um die Zellen weiter zu waschen. Entfernen und entsorgen Sie sichtbare noch vorhandene Mucus-Reste. Überschüssiger Mucus muß entfernt werden, da er eine angemessene Durchdringung durch das Reagens behindert und unspezifische Fluoreszenz-Signale verursachen kann.

Wenn alles Sekret in der Absaugsonde verblieben ist und den Schleimabsauger nicht mehr erreicht, spülen Sie das Sekret mit PBS aus der Sonde. Dazu setzen Sie am besten eine Pasteurpipette auf das Ende der Sonde, das mit dem Schleimabsauger verbunden ist.

Vorbereitung der Objektträger
Sobald die Zellen als Einzelzellen vorliegen, zentrifugieren Sie die Zellsuspension bei Raumtemperatur (15-30°C) 10 min. bei 380g und entsorgen den Überstand. Resuspendieren Sie das Zellsediment gerade in soviel PBS, um evtl. verbliebenen Mucus zu verdünnen und gleichzeitig eine hohe Zelldichte aufrechtzuerhalten. Pipettieren Sie 25µl des resuspendierten Zellsediments auf ein Testareal von 6mm Durchmesser eines Teflon-beschichteten Mikroskop-Objektträgers aus Glas.

Ein Testareal wird für den IMAGEN Parainfluenza-Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3) (Code-Nr. K6103) benötigt. Drei weitere Testareale dienen der Differenzierung von Parainfluenza-Viren mit dem IMAGENTM Parainfluenza-Virustypen-Testkit (für Typ 1, 2 und 3) (Code-Nr. K6104).

Lassen Sie die Probe langsam bei Raumtemperatur (15-30°C) lufttrocknen, und fixieren Sie sie dann in frischem Azeton bei Raumtemperatur (15-30°C) 10 min. lang. Wird die Probe nicht sofort gefärbt, sollte sie bis zum Gebrauch bei –70°C aufbewahrt werden. Gelagerte Objektträger sollten innerhalb von zwei Wochen nach der Präparation getestet werden, da sich der Zustand des Objektes mit der Zeit verschlechtern kann.

9.2. NACHWEIS IN DER ZELLKULTUR TYPISIERUNG

Inokulation von Zellkulturen
Zur Diagnose von Parainfluenza Virus Infektionen gewonnene Proben müssen in Zelllinien inokuliert werden, die in Laboratorien routinemäßig zur Anwendung gelangen. Die Zellkulturen müssen regelmäßig auf die Entwicklung eines zytopathischen Effekts (CPE) untersucht und in regelmäßigen Zeitabständen Hämadsorptionstests unterzogen werden. Alle im Hämadsorptionstest positiven Kulturen oder alle Zellkulturen, die einen CPE aufweisen, können abgeerntet und auf das Vorliegen von Parainfluenza Viren getestet werden.

Vorbereitung der Objektträger
Die Zellschicht mit einer sterilen Pipette in das Kulturmedium schaben. Die Zellen 10 Minuten bei 200g und Raumtemperatur (15-30°C) zentrifugieren und den Überstand entsorgen.

Die Zellen durch Resuspension des Zellsediments in PBS waschen und die Zentrifugation wiederholen. Den Überstand entsorgen und das Zellsediment in einer kleinen Menge (75 100µL pro Kulturröhrchen) frischer PBS resuspendieren, um eine hohe Zelldichte beizubehalten.

Je 25µL der Zellsuspension auf die einzelnen Testareale der Objektträger geben.

Für den IMAGEN Parainfluenza Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3) (Code-Nr. K6103) wird ein Testareal benötigt.

Für den IMAGEN Parainfluenza Virustypentest (Typ1, 2 und 3) (Code-Nr. K6014) werden drei Testareale benötigt.

Bei Raumtemperatur (15-30°C) gründlich an der Luft trocknen lassen und in frischem Azeton 10 Minuten bei Raumtemperatur (15-30°C) fixieren. Wird die Probe nicht sofort angefärbt, ist sie über Nacht bei 4°C aufzubewahren oder, falls eine längere Aufbewahrung vorgesehen ist, bei –20°C einzufrieren. Gelagerte Objektträger sollten innerhalb von zwei Wochen nach der Präparation getestet werden, da sich der Zustand des Objektes mit der Zeit verschlechtern kann.

10. TESTVERFAHREN

VOR DURCHFÜHRUNG DES TESTVERFAHRENS SIND DIE IN ABSCHNITT 8.2 AUFGEFÜHRTEN TECHNISCHEN VORSICHTSMASSNAHMEN ZU BEACHTEN.

Das Testverfahren für den IMAGEN Parainfluenza Virusgruppentest (Code-Nr. K6103) ist in Abschnitt 10.1 beschrieben und das für den IMAGEN Parainfluenza Virustypentest (Typ 1, 2 und 3) (Code-Nr. K6104) in Abschnitt 10.2.

10.1. IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUSGRUPPENTEST - K6103

10.1.1 Zugabe des Reagenz

25µL Reagenz G zu der fixierten Zellpräparation (siehe Abschnitt 9.1), einem positiven Kontrollobjektträger und einem negativen Kontrollobjektträger geben und sicherstellen, dass das Reagenz die gesamte Testfläche bedeckt.

10.1.2 Erste Inkubation

Die Objektträger **15 Minuten bei 37°C** in einer **feuchten Kammer inkubieren**. Das Reagenz **darf nicht** auf der Probe eintrocknen, da dies eine unspezifische Färbung verursachen kann.

10.1.3 Waschen des Objektträgers

Überschüssiges Reagenz mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS), abwaschen und den Objektträger in einem Schüttelbad, das PBS enthält, 5 Minuten vorsichtig waschen. PBS vom Objektträger abfließen lassen und bei Raumtemperatur (15-30°C) lufttrocknen.

10.1.4 Zugabe von Eindeckmedium

Einen Tropfen Eindeckmedium in die Mitte jedes Testareals geben und mit einem Deckglas eindecken; sicherstellen, dass dabei keine Luftblasen entstehen.

10.1.5 Ablesen des Objektträgers

Die gesamte Testfläche, auf der sich die gefärbte Probe befindet, mit einem Epifluoreszenzmikroskop untersuchen. Wie in Abschnitt 11 beschrieben, sollte die Fluoreszenz bei 200-500facher Vergrößerung sichtbar sein. (Die besten Ergebnisse erzielt man, wenn die Proben unmittelbar nach dem Anfärben abgelesen werden; Proben können aber auch bis zu 72 Stunden bei 2-8°C im Dunkeln aufbewahrt werden.)

10.2. IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUSTYPEN 1, 2 UND 3 - K6104

10.2.1 Zugabe der Reagenzien

25µL Reagenz 1 auf das erste Testareal, 25µL Reagenz 2 auf das zweite Testareal und 25µL Reagenz 3 auf das dritte Testareal zu

den fixierten Zellpräparationen (siehe Abschnitt 9.1) und auf den positiven und einen negativen Kontrollobjektträger geben. Sicherstellen, dass die Reagenzien die gesamte Testfläche bedecken.

10.2.2 Erste Inkubation

Die Objektträger **15 Minuten bei 37°C** in einer **feuchten Kammer inkubieren**. Das Reagenz **darf nicht** auf der Probe eintrocknen, da dies eine unspezifische Färbung verursachen kann.

10.2.3 Waschen des Objektträgers

Überschüssiges Reagenz mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) abwaschen und den Objektträger in einem Schüttelbad, das PBS enthält, fünf Minuten vorsichtig waschen. PBS vom Objektträger abfließen lassen und bei Raumtemperatur (15-30°C) lufttrocknen.

10.2.4 Zugabe von Eindeckmedium

Einen Tropfen Eindeckmedium in die Mitte jedes Testareals geben und mit einem Deckglas eindecken; sicherstellen, dass dabei keine Luftblasen entstehen.

10.2.5 Ablesen des Objektträgers

Die gesamte Testfläche, auf der sich die gefärbte Probe befindet, mit einem Epifluoreszenzmikroskop untersuchen. Wie in Abschnitt 11 beschrieben, sollte die Fluoreszenz bei 200-500facher Vergrößerung sichtbar sein. (Die besten Ergebnisse erzielt man, wenn die Proben unmittelbar nach dem Anfärben abgelesen werden; Proben können aber auch bis zu 72 Stunden bei 2-8°C im Dunkeln aufbewahrt werden.)

11. INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

11.1. KONTROLLEN

11.1.1 Positiver Kontrollobjektträger

Beim positiven Kontrollobjektträger, der gemäß Abschnitt 10 angefärbt wurde, sollten Zellen mit intrazellulärer, nukleärer und/oder zytoplasmatischer apfelgrüner Fluoreszenz sichtbar werden, die im Kontrast zum Hintergrund rot gegengefärbten Materials stehen.

Die positiven Kontrollobjektträger müssen verwendet werden, um zu überprüfen, ob das Färbeverfahren ordnungsgemäß durchgeführt wurde.

Diese Objektträger wurden mit Parainfluenzavirus-infizierten Einschicht-Zellkulturen präpariert und dienen ausschließlich der Kontrolle des Testverfahrens, nicht der Probenverarbeitung. Die Aufarbeitung der Proben sollte anhand von bekannt positivem klinischem Material überprüft werden.

11.1.2 Negative Kontrolle

Negative Kontrollobjektträger müssen aus nicht infizierten, intakten Zellen des Typs, der zur Kultur und Isolierung von Parainfluenza Viren verwendet wird, vorbereitet werden. Wenn die Zellen wie in Abschnitt 9.2 beschrieben präpariert und fixiert und gemäß Abschnitt 10 angefärbt und untersucht wurden, sind die Zellen auf dem negativen Kontrollobjektträger bei Gegenfärbung mit Evans Blau rot gefärbt.

Auf diese Weise hergestellte Objektträger dienen ausschließlich der Kontrolle des Testverfahrens, nicht der Probenverarbeitung. Die Aufarbeitung der Proben sollte anhand von bekannt negativem klinischem Material überprüft werden.

11.2. KLINISCHE PROBEN

11.2.1 Erscheinungsbild Parainfluenza-Virus infizierter Zellen

Bei Parainfluenza-Virus-infizierten Respirationsepithelzellen wird eine apfelgrüne intrazelluläre, nukleäre und/oder zytoplasmatische granuläre Fluoreszenz sichtbar.

Nicht infizierte Zellen sind bei Gegenfärbung mit Evans Blau rot gefärbt.

11.2.2 Interpretation der Ergebnisse

Eine positive Diagnose liegt dann vor, wenn eine oder mehrere Zellen der fixierten angefärbten Probe mit dem IMAGEN Parainfluenza Virusgruppenreagenz oder mit einem der einzelnen IMAGEN Parainfluenza Virustypenreagenzien (Typ 1, 2 oder 3) die in Abschnitt 11.2.1 beschriebene typische Fluoreszenz aufweisen.

Hingegen liegt eine negative Diagnose vor, wenn die fixierte, angefärbte Probe weder mit dem IMAGEN Parainfluenza Virusgruppenreagenz noch mit einem der einzelnen IMAGEN Parainfluenza Virustypenreagenzien (Typ 1, 2 oder 3) eine positive Fluoreszenz aufweist.

Für Proben direkt gefäbter nasopharyngealer Aspirate gilt, dass mindestens 20 nicht infizierte Respirationsepithelzellen sichtbar sein müssen, bevor ein Ergebnis als negativ dokumentiert wird (Siehe Abschnitt 11.2.3, Unzureichende Zelldichte).

11.2.3 Unzureichende Zelldichte

Sind auf dem Objektträger nicht genügend Zellen vorhanden, muss der Rest der klinischen Probe bei 380g 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (15-30°C) noch einmal zentrifugiert werden. Resuspendieren Sie die Zellen anschließend in wengier PBS und verteilen Sie dann erneut je 25µL Lösung auf den Testarealen. Alternativ kann eine neue klinische Probe angefordert werden.

11.3. NACHWEIS IN DER ZELLKULTUR UND TYPISIERUNG

11.3.1 Erscheinungsbild Parainfluenza Virus-infizierter Zellen

Bei infizierten Zellen wird eine intrazelluläre, nukleäre und/oder zytoplasmatische apfelgrüne Fluoreszenz sichtbar. Diese Zellen sollten als positive Parainfluenzadiagnose gewertet werden.

Nicht infizierte Zellen sind bei Gegenfärbung mit Evans-Blau rot gefärbt und sollten als negativ diagnostiziert werden.

11.3.2 Interpretation der Ergebnisse

Eine positive Diagnose liegt dann vor, wenn eine oder mehrere Zellen der fixierten, angefärbten Probe mit dem IMAGEN Parainfluenza Virusgruppenreagenz oder mit einem der einzelnen IMAGEN Parainfluenza Virustypenreagenzien (Typ 1, 2 oder 3) die in Abschnitt 11.3.1 beschriebene typische Fluoreszenz aufweisen.

Mindestens 50 nicht infizierte Zellen der getesteten Zellkultur müssen auf jedem Objektträger sichtbar sein, bevor ein negatives Ergebnis diagnostiziert werden kann. Siehe Abschnitt 11.2.3, Unzureichende Zelldichte.

11.3.3 Qualitätskontrolle

Positive und negativen Kontrollen sollten jedes Mal gefärbt und untersucht werden, wenn IMAGEN Parainfluenza Reagenzien verwendet werden, um infizierte Zellkulturen auf Parainfluenza zu untersuchen.

Die gelieferten positiven Kontrollobjektträger dienen als geeignete Kontrollen, um die korrekte Funktion der Färbeverfahren und die Reaktivität der Reagenzien mit Parainfluenza Virus infizierten Zellen zu ermitteln. Zusätzliche positive Kontrollobjektträger sind bei Oxoid (Code-Nr. S6111) erhältlich.

Reagenzien und Verfahren sollten außerdem anhand eines negativen Kontrollzellausstrichs aus einer nicht inokulierten (nicht infizierten) Zellkultur des Typs kontrolliert werden, der zur Isolierung von Parainfluenza Viren verwendet wird.

Falls die auf dem Testareal des Objektträgers oder des negativen Kontrollobjektträgers befindliche Präparation zu wenig Zellen aufweist (weniger als 50), wird der Rest der Zellkulturprobe 10 Minuten bei 200g und Raumtemperatur (15 30°C) zentrifugiert und in einer kleineren Menge (ca. 50µL) PBS resuspendiert. 25µL der Zellsuspension wie in den Abschnitten 9 und 10 beschrieben auf die einzelnen Testareale geben und verarbeiten.

Wenn sowohl die IMAGEN Parainfluenza Virusgruppen und Virustypenreagenzien verwendet werden und mit den drei einzelnen Typenreagenzien ein negatives Ergebnis entsteht, während das Ergebnis mit dem Gruppenreagenz positiv war, sollten zusätzliche Zellabstriche vorbereitet und der Test wiederholt werden.

Eine andere Möglichkeit besteht darin, eine Kulturpassage durchzuführen, um die Virusmenge und die Anzahl der infizierten Zellen zu vergrößern, bevor der Immunofluoreszenztest wiederholt wird.

12. GRENZEN DER METHODE

12.1. Verwenden Sie ausschließlich das gelieferte Eindeckmedium.

12.2. Bei immunchemischen Tests kommt es aufgrund von Bindungen zwischen den Fc Regionen der Antikörper und Protein A Antigen, das in den Zellwänden einiger Stämme von *Staphylococcus aureus* vorliegt, manchmal zu unspezifischen Färbungen. Die IMAGEN Parainfluenza Virus Testreagenzien wurden modifiziert, um die Bindung an das Protein A des Cowan 1 Stammes von *Staphylococcus aureus* zu reduzieren. Der im Parainfluenza Virustyp 1 Reagenz verwendete Antikörper kann allerdings eine sehr schwache Kreuzreaktion mit Protein A von *Staphylococcus aureus* zeigen.

Staphylococcus aureus kann in klinischen Proben vorhanden sein und somit in eine Zellkultur inokuliert werden, wo seine Replikation durch antimikrobielle Mittel gehemmt werden muss. *Staphylococcus aureus* tritt stets in Form von Tetraden oder traubenartigen Kokkengruppen (mit einem Einzeldurchmesser von ca. 1µm) und eher extrazellulär auf, im Gegensatz zu der charakteristischen intrazellulären, feingranulären Färbung, die bei einer mit Parainfluenza Viren infizierten Zellkultur zu beobachten ist.

12.3. Art und Zustand der benutzten Instrumente beeinflussen das optische Erscheinungsbild des Ergebnisses. Die Intensität der Fluoreszenz kann, abhängig vom Typ des Mikroskops, der benutzten Lichtquelle, Alter der Glühlampe sowie Filterzusammenstellung und –dicke, Unterschiede in der Sensititvität des Antigensubstrats oder des verwendeten Testverfahrens unterschiedlich sein. Jedes Labor muss daher seine eigenen Kriterien für die Auswertung der Testergebnisse unter Einsatz geeigneter Kontrollen festlegen.

12.4. Falls in der Zellkultur keine Parainfluenza Viren nachgewiesen werden können, kann das die Folge verschiedener Faktoren wie unsachgemäßer Probengewinnung und/oder Handhabung der Proben oder Versagen der Zellkultur etc. sein. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Parainfluenza Virusinfektion nicht aus.

12.5. Sowohl die IMAGEN Parainfluenza-Gruppenreagenzien als auch die und IMAGEN Parainfluenza-Typisierungsreagenzien erkennen in infizierten Zellen vorhandene Parainfluenza-Virus-Antigene. Ein positives Ergebnis erlaubt jedoch keine Aussage über die “Lebensfähigkeit” der vorhandenen Parainfluenza-Viren.

12.6. Die in den IMAGEN Parainfluenza-Gruppen- und Typisierungsreagenzien enthaltenen monoklonalen Antikörper wurden gegen Prototypen von Parainfluenza-Virusstämmen entwickelt. Möglicherweise werden jedoch nicht alle antigenen Varianten oder neue Stämme von Parainfluenza-Viren erkannt.

12.7. Antigene Variationen der Epitope, die von den im Kit enthaltenen monoklonalen Antikörpern erkannt werden, können zu neuen antigenen Varianten führen, die nicht mehr von den Antikörpern erkannt werden.

12.8. Die Vorhersagewerte der Testergebnisse werden durch die Prävalenz der zu analysierenden Proben beeinflusst.

12.9. Das Erscheinungsbild der Fluoreszenz kann je nach Mikroskoptyp und verwendeter Lichtquelle variieren.

12.10. Es wird empfohlen, zum Bedecken eines 6 mm-Durchmessers des Testareals 25 µL Reagenz zu verwenden. Eine Reduzierung dieser Menge kann zu Schwierigkeiten beim Bedecken der Probenfläche und damit zu einer verringerten Sensitivität führen.

12.11. Alle Reagenzien werden in festgelegten Arbeitskonzentrationen geliefert. Der Testerfolg kann beeinträchtigt werden, wenn die Reagenzien verändert oder unter anderen Bedingungen als den empfohlenen aufbewahrt werden.

12.12. Die Testergebnisse sollten in Verbindung mit den verfügbaren Informationen aus epidemiologischen Studien, der klinischen Bewertung des Patienten und anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden.

13. SOLLWERTE

Die Isolationsrate von Parainfluenza-Viren kann, abhängig vom Typ des verwendeten Tests, von Methode, Zeitpunkt und Ort der Probengewinnung, Handhabung, Aufbewahrung und Transport der Proben, variieren. Außerdem ist sie von Prävalenzraten in den Populationen sowie von Alter, geographischer Lage und sozioökonomischem Status der getesteten Population abhängig.

Parainfluenza Viren der Typen 1, 2 und 3 herrschen in der ganzen Welt vor und werden in gemäßigten, tropischen und arktischen Klimazonen mit Atemwegsinfektionen assoziiert.[10] Die meisten Infektionen treten bei Kleinkindern unter 5 Jahren auf, bei denen die Parainfluenza Viren für 20% der Atemwegsinfektionen und für 30-40% der Fälle von Krupp verantwortlich sind.[11,12]

Mehr als 90% der Kleinkinder machen eine Primärinfektion mit einem Parainfluenza Virus durch, und bei bis zu 50% können symptomatische Reinfektionen auftreten.[2]

Parainfluenza Viren weisen während saisonal bedingten Ausbrüchen von Atemwegsinfektionen hohe Prävalenzraten auf. In gemäßigten Klimazonen werden Parainfluenza Viren meist mit Ausbrüchen in den Herbst und Wintermonaten assoziiert.[13,14] In einigen Ländern können Ausbrüche von Parainfluenza Virus Typ 3 Infektionen auch in den Frühlings und Sommermonaten erfolgen.[3]

Die höchsten Erkrankungsraten treten bei Kindern im Alter zwischen 1 und 5 Jahren auf. Infektionen oder Reinfektionen bei älteren Kindern und Erwachsenen gehen im allgemeinen mit schwächeren Atemwegs Symptomen einher.

Parainfluenza Viren sind für Ausbrüche von Atemwegsinfektionen in Krankenhäusern, insbesondere in Kinderstationen und in Altersheimen verantwortlich, wo sie mit erhöhten Krankheits und Sterblichkeitsraten einhergehen.[6]

Während des Winters 1994-1995 lag die Gesamtinzidenz des Parainfluenza-Virus auf der Grundlage von Virus-Isolationsergebnisse in einem Untersuchungszentrum für den Parainfluenza-Virus Typ 1 bei 12,5% (21/168), Typ 2 bei 1,8% (3/168) und Typ 3 bei 14,3% (24/168).

Diese Werte geben jedoch kein genaues Bild von der Prävalenz des Parainfluenzavirus in der Gesamtbevölkerung ab, da die Proben von einer ausgewählten Population stammen, die sich wegen Atemwegsinfektionen in Untersuchung befand.

14. SPEZIFISCHE LEISTUNGSKRITERIEN

14.1. KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN

14.1.1 Direkte Proben

Der IMAGEN Parainfluenza Virus Gruppentest und der IMAGEN Parainfluenza Virus 1, 2 und 3 Typisierungstest wurden für die direkte Anwendung an nasopharyngealen Absaugsekreten an drei Zentren, eins in den USA und zwei in England, getestet. Die Gewinnung der Proben erfolgte während des Winters 1994-1995.

Die klinischen Untersuchungen erfolgten an Proben nasopharyngealer Sekrete von Patienten mit vermuteter Parainfluenza-Virusinfektion. Die Proben wurden wie in Abschnitt 9.1.1 beschrieben gesammelt und untersucht. Azeton-fixierte Proben wurden entweder frisch (Lagerung bei 2-8°C und innerhalb von 3 Tagen getestet) oder eingefroren (und zu einem späteren Zeitpunkt getestet) für die Auswertung herangezogen. Bei den Standard-(Referenz-) Methoden handelte es sich um einen kommerziell erhältlichen indirekten Immunfluoreszenztest und um Virus-Isolation und -Identifikation.

Eine Probe wurde als positiv gewertet, wenn eine oder mehrere der Respirationsepithelzellen mit dem IMAGEN Parainfluenza-Virusgruppenreagenz oder mit einem der einzelnen IMAGEN Parainfluenza-Virustypenreagenzien (Typ 1, 2 oder 3) die in Abschnitt 11.2.1 beschriebene typische Fluoreszenz aufwies.

14.1.2 Nachweis in der Zellkultur

Der IMAGEN Parainfluenza Virus Gruppentest (und der IMAGEN Parainfluenza Virus 1, 2 und 3 Typisierungstest wurden in klinischen Untersuchungen an 4 Zentren in England getestet. Die Untersuchungen wurden zwischen Juli und Oktober 1991 durchgeführt.

Während dieses Zeitraums lag die Gesamtinzidenz des Parainfluenza Virus in einem der Testzentren bei 14,4% (15 von 104) für das Parainfluenza Virus Typ 1 und bei 8,7% (9 von 104) für das Parainfluenza Virus Typ 3. Diese Werte geben jedoch kein genaues Bild von der Prävalenz des Parainfluenzavirus in der Gesamtbevölkerung ab, da die Proben von einer ausgewählten Population stammen, die sich wegen Atemwegsinfektionen in Untersuchung befand. Die Untersuchungen erfolgten an Proben aus Einschicht Zellkulturen, die zuvor mit klinischen Proben von Patienten mit vermuteter Parainfluenza Virusinfektion beimpft worden waren. Standardmethoden zur Identifikation von Parainfluenza Viren auf Zellkulturen waren entweder Neutralisationstests oder die indirekte Immunfluoreszenz. Die IMAGEN Parainfluenza Virusreagenzien wurden auch gegen eine Reihe von Mikroorganismen auf Kreuzreaktivität getestet, die in routinemäßig gewonnenen klinischen Proben mit hoher Wahrscheinlichkeit vorliegen (siehe Abschnitt 14.3).

14.2. KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

14.2.1 Direkte Proben

Insgesamt wurden Proben von 222 Patienten mit vermuteter respiratorischer Virusinfektion mit dem IMAGEN Parainfluenza-Virus-Gruppentest und dem IMAGEN Parainfluenza-Virus 1, 2 und 3-Typisierungstest untersucht.

An einem Zentrum im Nordosten der USA wurden 184 Proben von Kindern gewonnen und untersucht, um die Sensitivität und Spezifität des Tests zu bestimmen. Die Mehrzahl der Untersuchungen wurde mit Ergebnissen der Virusisolation verglichen, ein kleinerer Anteil mit der Referenz-Methode des indirekten Immunfluoreszenztests.

Die Ergebnisse dieses US-Zentrums sind in den Tabellen 14.1 und 14.2 dargestellt. An den beiden Testzentren in England wurden Proben zur Untersuchung ausgewählt, von denen bekannt war, dass sie Parainfluenza-Virus enthielten, um die Anzahl positiver Proben zu erhöhen. Diese Ergebnisse sind in den Tabellen 14.3 und 14.4 dargestellt. Die Vergleichsergebnisse zur Positivitätsrate für Parainfluenza-Virus sind in den Tabellen 14.5 und 14.6 dargestellt.

IMAGEN Parainfluenza Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3)
Am US-Zentrum korrelierten die Ergebnisse mit dem IMAGEN Parainfluenza-Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3) zu 97,6% mit den Methoden der viralen Kultur und zu 98,4% mit dem indirekten Immunfluoreszenztest.

Die relative Sensitivität und Spezifität des IMAGEN Parainfluenza-Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3) betrug 97,9% bzw. 97,5% verglichen mit der Methode der Virusisolierung. Im Vergleich zur Referenz-Methode der indirekten Immunfluoreszenz betrug die relative Sensitivität und Spezifität 96,2% bzw. 99,0%.

IMAGEN Parainfluenza Virustypentest (Typ 1)
Am US-Zentrum korrelierten die Ergebnisse des IMAGEN Parainfluenza-Virus Typ 1-Tests zu 100% mit den Referenz-Methoden der Virusisolierung und dem Immunfluoreszenztest.

IMAGEN Parainfluenza Virustypentest (Typ 2)
Am US-Zentrum korrelierten die Ergebnisse des IMAGEN Parainfluenza-Virus Typ 2-Tests zu 100% mit den Referenz-Methoden der Virusisolierung und dem Immunfluoreszenztest. Die Sensitivität und Spezifität des Tests betrug ebenfalls 100% im Vergleich zu diesen Referenz-Methoden.

IMAGEN Parainfluenza Virustypentest (Typ 3)
Am US-Zentrum korrelierten die Ergebnisse des IMAGEN Parainfluenza-Virus Typ 3-Tests zu 97,6% mit der Referenz-Methode der Virusisolierung. Die Sensitivität und Spezifität des Tests betrug 91,6% bzw. 98,6% im Vergleich zur Virusisolierung. Die Korrelation zur direkten Immunfluoreszenz betrug 98,4%, Sensitivität und Spezifität lagen bei 75%bzw. 99,1%.

Tabelle 14.1 Vergleich der Testergebnisse von direkt an nasopharyngealen Sekreten angewendeten IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit der Standardmethode der direkten Virusisolierung am US-Zentrum

			IMAGEN Parainfluenza-Virus-Reagenz	
IMAGEN Parainfluenza-Virus-Reagenz	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben (Virus-Isolation)	Sensitivität	Spezifität
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1) (95% Vertrauensintervall)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2) (95% Vertrauensintervall)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3) (95% Vertrauensintervall)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz (95% Vertrauensintervall)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)

Tabelle 14.2 Vergleich der Testergebnisse von direkt an nasopharyngealen Sekreten angewendeten IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit der Standardmethode der indirekten Immunfluoreszenz am US-Zenter

			IMAGEN Parainfluenza-Virus-Reagenzien	
IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenz	Anzahl getesteter Proben	Anzahl positiver Proben (Referenz-Methode Immun-fluoreszenz)	Relative Sensitivität	Relative Spezifität
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1) (95% Vertrauensintervall)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2) (95% Vertrauensintervall)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3) (95% Vertrauensintervall)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz (95% Vertrauensintervall)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Anmerkung: "Relativ" bezieht sich auf den Vergleich der Ergebnisse dieses Tests mit denen einer ähnlichen Untersuchung. Es wurde kein Versuch unternommen, eine Korrelation zwischen den Versuchsergebnissen und dem Vorliegen oder Nichtvorliegen einer Krankheit herzustellen. Über die Genauigkeit des Vergleichstests in Bezug auf die Vorhersagbarkeit einer Krankheit kann keine Aussage gemacht werden.

Tabelle 14.3 Vergleich der Testergebnisse von direkt an nasopharyngealen Sekreten angewendeten IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit der Standardmethode der direkten Virusisolation an den zwei Zentren in England

Virusisolation IMAGEN Reagenz		**Pos Pos**	**Neg Neg**	**Pos Neg**	**Neg Pos**
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1)	n = 35	3	31	0	1**
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2)	n = 35	2	32	1*	0
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3)	n = 35	27	7	1*	0
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz	n = 35	30	0	4***	1**

* Beide Proben waren ebenfalls imindirekten Immunfluoreszenztest negativ.

** Die Probe ware ebenfalls im indirekten Immunfluoreszenztest positiv

*** Zwei dieser Proben waren ebenfalls im indirekten Immunfluoreszenztest negativ.

Tabelle 14.4 Vergleich der Testergebnisse von direkt an nasopharyngealen Sekreten angewendeten IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit der Standardmethode der indirekten Immunfluoreszenz an den zwei Zentren in England

Referenz-Immunofluoreszenztest IMAGEN Reagenz		**Pos Pos**	**Neg Neg**	**Pos Neg**	**Neg Pos**
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1)	n = 38	3	35	0	0
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2)	n = 38	3	35	0	0
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3)	n = 38	30	8	0	0
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz	n = 38	34	2	2*	0

* Eine Probe enthielt wenig Zellen.

Tabelle 14.5 Vergleich der positiven Testergebnisse von direkt an nasopharyngealen Sekreten angewendeten IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit der Standardmethode der direkten Virusisolation an allen Zentren

IMAGEN Reagenz	**Nachgewiesene Anzahl durch Virusisolation**	**Nachgewiesene Anzahl durch IMAGEN-Reagenz**	**% Über-einstimmung**
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1)	24	24	100%
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2)	6	5	83,3%
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3)	52	49	94,2%
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz	82	77	93,9%

Tabelle 14.6 Vergleich der positiven Testergebnisse von direkt an nasopharyngealen Sekreten angewendeten IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit der Standardmethode der indirekten Immunfluoreszenz an allen Zentren

IMAGEN Reagenz	**Nachgewiesene Anzahl durch Referenz-Immunfluoreszenz**	**Nachgewiesene Anzahl durch IMAGEN-Reagenz**	**% Über-einstimmung**
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1)	24	24	100%
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2)	4	4	100%
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3)	34	33	97,0%
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz	62	59	95,2%

14.2.2 Bestätigung der Zellkultur

IMAGEN Parainfluenza-Virusgruppe (Typ1, 2 und 3)
Der IMAGENTM Parainfluenza-Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3) wies mit den Standardmethoden eine Korrelation von 98,3% auf (Tabelle 14.7). Die relative Sensitivität und Spezifität des Tests betrug 98,3% bzw. 98,5%.

IMAGEN Parainfluenza-Virustypen 1, 2 und 3
Die relative Sensitivität betrug für die einzelnen Parainfluenza-Virusgruppenreagenzien 1, 2 und 3 96,1%, 100% bzw.

97,4%. Die relative Spezifität für die einzelnen Parainfluenza-Virustypenreagenzien 1, 2 und 3 betrug 99,3%, 99,7% bzw. 98,4%.

Tabelle 14.7 Vergleich der Testergebnisse mit IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien mit Standardmethoden zur Zellkulturbestätigung

IMAGEN Parainfluenza-Virus Test	Anzahl der getesteten Proben	Anzahl der positiven Proben mit Standard-methoden	IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien[a]	
			Relative Sensitivität	Relative Spezifität[b]
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 1) (95% Vertrauensintervall)	322	51	96,1% (49/51) (86,5% - 99,5%)	99,3% (269/271) (97,4% - 99.9%)
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 2) (95% Vertrauensintervall)	315	24	100% (24/24) (85,8% - 100%)	99,7% (290/291) (98,1% - 100%)
Parainfluenza-Virustypenreagenz (Typ 3) (95% Vertrauensintervall)	345	155	97,4% (151/155) (93,5% - 99,3%)	98,4% (187/190) (95,5% - 99.7%)
Parainfluenza-Virusgruppenreagenz (95% Vertrauensintervall)	363	229	98,3% (225/229) (95,6% - 99,5%)	98,5% (132/134) (94,7% - 99,8%)

[a] Die Ergebnisse von einem der vier Testzentren beinhalten einen Teil gefrorener Proben.

[b] Mit den IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien wurden zwei Stämme vom Typ 1 und einen Stamm vom Typ 3 nachgewiesen, die mit den Standardmethoden nicht nachgewiesen wurden.

14.3. KREUZREAKTIVITÄT

Die in Tabelle 14.8 aufgeführten Mikroorganismen wurden mit dem IMAGEN Parainfluenza Virusgruppentest (Typ 1, 2 und 3) und den IMAGEN Parainfluenza Virustypentests (Typ1, 2 und 3) getestet und zeigten keinerlei Kreuzreaktivität. Die Untersuchungen auf Kreuzreaktivität erfolgten an Objektträgerpräparationen aus Stammkulturen oder neueren Erregerisolierungen.

Tabelle 14.8 Organismen, die mit allen IMAGEN Parainfluenza-Virusreagenzien untersucht und für nicht reaktiv befunden wurden

Mikroorganismus	Herkunft	Anzahl der untersuchen Proben
Acholeplasma laidlawii	*NCTC 10116 Kulturbouillonablagerung*	*1*
Adenovirus Typ 1	*Zellkultur*	*9*
Adenovirus Typ 2	*Zellkultur*	*5*
Adenovirus Typ 3	*Zellkultur*	*8*
Adenovirus Typ 4	*Zellkultur*	*3*
Adenovirus Typ 5	*Zellkultur*	*4*
Adenovirus Typ 7	*Zellkultur*	*3*
Adenovirus Typ 10	*Zellkultur*	*1*
Adenovirus Typ 41	*Zellkultur*	*1*
Bordetella parapertussis	*Zellkultur*	*1*
Bordetella pertussis	*Kulturmedium*	*1*
Branhamella catarrhalis	*Kulturmedium*	*1*
Candida albicans	*Kulturmedium*	*1*
Chlamydia pneumoniae	*Zellkultur & Kulturmedium*	*je 1*
Chlamydia psittaci	*Zellkultur*	*2*
Chlamydia trachomatis	*Zellkultur*	*2*
Kuhpockenvirus	*Zellkultur*	*1*
Coxsackie-Virus Typ A7	*Zellkultur*	*1*
Coxsackie-Virus Typ A9	*Zellkultur*	*1*
Coxsackie-Virus Typ B3	*Zellkultur*	*3*
Coxsackie-Virus Typ B4	*Zellkultur*	*1*
Coxsackie-Virus Typ B5	*Zellkultur*	*2*
Zytomegalie-Virus	*Zellkultur*	*2*
ECHO-Virus Typ 5	*Zellkultur*	*1*
ECHO-Virus Typ 11	*Zellkultur*	*1*
ECHO-Virus Typ 19	*Zellkultur*	*2*
ECHO-Virus Typ 30	*Zellkultur*	*4*
Epstein Barr-Virus	*Kontinuierliche Zellkultur*	*1*
Escherichia coli	*Kulturmedium*	*1*
Humanes Foamy Virus	*Zellkultur*	*1*
Haemophilus influenzae	*Kulturmedium & Sputum*	*je 1*
Herpes-simplex-Virus Typ 1	*Zellkultur*	*3*
Herpes-simplex-Virus Typ 2	*Zellkultur*	*2*
Influenzavirus Typ A	*Zellkultur*	*2*
Influenzavirus Typ B	*Zellkultur*	*2*
Klebsiella pneumoniae	*Kulturmedium*	*1*
Legionella pneumophila	*Zellkultur*	*1*
Masernviruas	*Zellkultur*	*3*
Mumps-Virus	*Zellkultur*	*8*
Mycobacterium avium	*Kulturmedium*	*1*
Mycobacterium intracellulare	*Kulturmedium*	*1*
Mycobacterium tuberculosis	*Kulturmedium*	*1*
Mycoplasma arginini	*NCTC 10129 Kulturbouillonablagerungt*	*1*
Mycoplasma hominis	*NCTC 10111 Kulturbouillonablagerungt*	*1*
Mycoplasma hyorhinus	*NCTC 10130 Kulturbouillonablagerungt*	*1*
Mycoplasma orale	*NCTC 10112 Kulturbouillonablagerungt*	*1*
Mycoplasma pneumoniae	*NCTC 10119 Kulturbouillonablagerung*	*1*
Mycoplasma salivarium	*NCTC 10113 Kulturbouillonablagerungt*	*1*
Neisseria cinerea	*Kulturmedium*	*1*
Neisseria flavescens	*Kulturmedium*	*1*
Neisseria gonorrhoeae	*Kulturmedium*	*1*
Neisseria lactamica	*Kulturmedium*	*1*
Neisseria meningitidis A, B, C & D	*Kulturmedium*	*je 1*
Neisseria mucosa	*Kulturmedium*	*1*
Neisseria perflava	*Kulturmedium*	*1*
Neisseria pharyngis	*Zellkultur*	*1*
Parainfluenza-Virus Typ 4a	*Klinische Probe*	*2*
Pneumocystis carinii	*Zellkultur*	*1*
Polio–Virus Typ 1	*Zellkultur*	*1*
Polio –Virus Typ 2	*Zellkultur*	*2*
Polio –Virus Typ 3	*Zellkultur*	*3*
RS-Virus	*Zellkultur*	*8*
Rhinovirus	*Zellkultur*	*6*
Sendai-Virus	*Zellkultur*	*1*
Streptococcus Gruppe A, B, C, D, F und G	*Kulturmedium*	*je 1*
Streptococcus pneumoniae	*Sputum*	*1*
Varicella-Zoster–Virus	*Zellkultur*	*2*

15. REFERENZEN

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 Überarbeitet Februar 2013

REF K610411-2, ∑ 50 tests

K610311-2 ∑ 50 tests

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hants, RG24 8PW, GB

Anfragen jeder Art richten Sie bitte an die für Sie zuständige an Ihren Händler.