

IMAGEN

PARAINFLUENZA VIRUS

TYPES 1, 2 AND 3

REF	K610311-2	Σ Σ 50	Σ Σ 50	EL
	K610411-2			

Εξέταση άμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση του Ιού Παραϊνφλουέντσας 1, 2, και 3.

1. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Τα κιτ εξέτασης **IMAGEN™ του ιού Παραϊνφλουέντσας** είναι ποιοτικές εξετάσεις άμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση και διαχωρισμό των ιών Παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3 κατευθείαν σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις ή κυτταροκαλλιέργειες. Τα κιτ διατίθενται σε δύο μορφές:

Η ομάδα ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Τύποι 1, 2 και 3) (Αρ. Κωδικού K6103) για την ανίχνευση και επιβεβαίωση της παρουσίας αντιγόνων ιού Παραϊνφλουέντσας κατευθείαν σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις και κυτταροκαλλιέργειες.

Ο ιός παραϊνφλουέντσας της IMAGEN Τύποι 1, 2 και 3 (Αρ. Κωδικού K6104) για την ανίχνευση και διαχωρισμό αντιγόνων ιών Παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3 αντίστοιχα κατευθείαν σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις και κυτταροκαλλιέργεια.

Ενα αρνητικό αποτέλεσμα που λήφθηκε σύμφωνα με την άμεση χρώση ρινοφαρυγγικών αναρροφήσεων, πρέπει να θεωρηθεί υποθετικό μέχρι να επιβεβαιωθεί από κυτταροκαλλιέργεια.

2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιοί Παραϊνφλουέντσας είναι μέλη του γένους Paramyxovirus που ταξινομείται στην οικογένεια των Paramyxoviridae.¹ Υπάρχουν 6 είδη γνωστού Paramyxovirus που μολύνει τον άνθρωπο τα οποία περιλαμβάνουν ιούς Παραϊνφλουέντσας 1, 2, 3 και 4 (υπότυποι 4α και 4β), τον ιό Παρωτίτιδας και τον (Newcastle Disease) ιό της νόσου Newcastle. Από τους τέσσερις ιούς Παραϊνφλουέντσας, οι τύποι 1, 2 και 3 αναγνωρίζονται τώρα ως η αιτία οξείας αναπνευστικής νόσου σε βρέφη και παιδιά.^{2,3}

Οι ιοί Παραϊνφλουέντσας μεταδίδονται με άμεση επαφή ή εισπνοή σταγονιδίων που περιέχουν τον ιό που αποβάλλονται από την αναπνευστική οδό συμπτωματικών ατόμων. Οι ρινικές εκκρίσεις μπορεί να περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις του ιού. Ο ιός πολλαπλασιάζεται στα κροσσωτά κυλινδρικά επιθηλιακά κύτταρα της άνω και κάτω αναπνευστικής οδού προκαλώντας νέκρωση των κυττάρων και διαχωρισμό. Η αποβολή του ιού συμβαίνει 1 ημέρα πριν, μέχρι 7 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων. Η αποβολή μπορεί να επιμείνει σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς.^{4,5}

Οι ιοί Παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3 μπορεί να μολύνουν και να προκαλέσουν ασθένεια σε ολόκληρη την άνω και κάτω αναπνευστική οδό. Οι περισσότερες λοιμώξεις ιού Παραϊνφλουέντσας εκδηλώνονται κλινικά ως οξεία λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα (λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα) σε βρέφη και παιδιά. Ωστόσο, οι λοιμώξεις ιών Παραϊνφλουέντσας σχετίζονται επίσης με τραχειοβρογχίτιδα, βρογχίτιδα, πνευμονία και μια σειρά συμπτωμάτων που σχετίζονται με την άνω αναπνευστική οδό.

Περιστασιακά οι λοιμώξεις ιών Παραϊνφλουέντσας μπορεί να είναι βαριές στα βρέφη, προκαλώντας απόφραξη των αεραγωγών και αναπνευστική δυσχέρεια η οποία είναι επίσης πιθανό να οδηγήσει σε αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα σε ασθενείς με υποκείμενες ασθένειες όπως η κυστική ίνωση ή σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς.

Οι ιοί παραϊνφλουέντσας σχετίζονται με εξάρσεις λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού σε παιδιατρικές και γηριατρικές πτέρυγες έχοντας ως αποτέλεσμα παρατεταμένη νοσοκομειακή περίθαλψη και αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα.⁶ Η γρήγορη διάγνωση είναι σημαντική στην αντιμετώπιση ασθενών και τον έλεγχο των εκδηλώσεων της νόσου.

Προς το παρόν οι κύριες διαγνωστικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση των λοιμώξεων ιών παραϊνφλουέντσας είναι είτε απομόνωση και αναγνώριση σε μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας ή άμεση ανίχνευση του ιού σε κλινικά δείγματα.

Μετά την απομόνωση του ιού με κυτταροκαλλιέργεια, με σκοπό την αναγνώριση του ιού, είναι αναγκαίο να πραγματοποιείται επιπλέον εξέταση, εξουδετέρωση, αναστολή αιμοσυγκόλλησης ή ηλεκτρονική μικροσκοπία. Οι εξετάσεις αυτές είναι επίπονες, απαιτούν χρόνο και απαιτούν κάποιο βαθμό τεχνικής εξειδίκευσης ο οποίος είναι πιθανό να μην διατίθεται σε πολλά εργαστήρια.

Πιο πρόσφατα, έχουν περιγραφεί εξετάσεις έμμεσου ανοσοφθορισμού χρησιμοποιώντας πολυκλωνικά ή μονοκλωνικά αντισώματα για την αναγνώριση και επιβεβαίωση των ιών παραϊνφλουέντσας σε μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας ή κατευθείαν σε κλινικά δείγματα.^{7,8,9} Οι εξετάσεις άμεσου ανοσοφθορισμού χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα που επισημαίνονται με φλουορσκεΐνη προσφέρουν μια πιο γρήγορη και ειδική μέθοδο για την ανίχνευση ιών σε κλινικά δείγματα ή κυτταροκαλλιέργεια.

Τα κιτ IMAGEN του ιού Παραϊνφλουέντσας είναι εξετάσεις άμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση και αναγνώριση των ιών Παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3 κατευθείαν σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις ή κυτταροκαλλιέργειες. Οι εξετάσεις χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ειδικού-τύπου για την ανίχνευση και αναγνώριση των ιών παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Τα κιτ εξετάσεων IMAGEN ιού Παραϊνφλουέντσας περιέχουν ανοσοκυκλική φλουορσκεΐνη (FITC) συζευγμένη με μονοκλωνικό αντισώματα τα οποία δεσμεύονται ειδικά με οποιοδήποτε από τους ιούς παραϊνφλουέντσας τύπου 1, 2 ή 3. Αυτά χρησιμοποιούνται σε τεχνική άμεσου ανοσοφθορισμού ενός βήματος. Τα δείγματα επωάζονται με τα συζευγμένα με FITC αντιδραστήρια για 15 λεπτά. Η περίσσεια αντιδραστηρίου αφαιρείται έπειτα μέσω έκπλυσης με αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS). Οι κεχρωσμένες περιοχές στερεώνονται και προβάλλονται χρησιμοποιώντας φωτισμό επιφθορισμού. Αν υπάρχουν οι τύποι 1, 2 και 3 του ιού παραϊνφλουέντσας τότε, παρατηρείται εντός των μολυσμένων κυττάρων χαρακτηριστικός ενδοκυτταρικός φθορισμός χρώματος πράσινου μήλου, ο οποίος έρχεται σε αντίθεση με τη χρώση κόκκινου υποβάθρου των μη μολυσμένων κυττάρων.

Κοινοποίηση

Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στις εξετάσεις αυτές προήλθαν στο Department of Respiratory and Enteric Viruses (Τμήμα αναρρόφησης και εντερικών ιών), Public

Health Services (Δημόσιες υπηρεσίες υγείας), Centre for Disease Control (Κέντρο ελέγχου νόσων), Ατλάντα, Γεωργία, Η.Π.Α.

4. ΟΡΙΣΜΟΙ

Τα ακόλουθα σύμβολα έχουν χρησιμοποιηθεί σε ολόκληρο το ένθετο πληροφοριών προϊόντος.

REF	Κωδικός προϊόντος και αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Περιέχει επαρκές υλικό για <N> εξετάσεις
	Κατασκευάζεται από
IVD	<i>In Vitro</i> Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό Προϊόν
	Χρήση έως
LOT	Αριθμός παρτίδας
	Περιορισμοί θερμοκρασίας αποθήκευσης

5. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

 50 - Κάθε κιτ περιέχει επαρκή υλικά για εξέταση 50 παρασκευασμάτων κυτταροκαλλιέργειας.

 - Η διάρκεια ζωής του κιτ είναι αυτή που αναγράφεται στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

5.1. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΠΑΡΑΪΝΦΛΟΥΕΝΤΣΑΣ ΤΗΣ IMAGEN	
	τις οδηγίες χρήσης
POSITIVE CONTROL SLIDE	Πλάκες μικροϋποδοχής θετικών υλικών ελέγχου 2 x 3 που περιέχουν κύτταρα νεφρού Αφρικανικού πράσινου πιθήκου σταθεροποιημένα σε ακετόνη (Veros) που μολύνθηκαν είτε με ιό παραϊνφλουέντσας τύπου 1, 2 ή 3 (ατέλεχος CDC V6-004, CDC V7-003 και CDC V5-003 αντίστοιχα.
	3mL υγρού στερέωσης. Το υγρό στερέωσης περιέχει αναστολέα φωτολεύκανσης σε διάλυμα γλυκερόλης (pH 10,0).

Μία φιάλη από κάθε ένα από τα παρακάτω:

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΟΜΑΔΑΣ ΙΩΝ ΠΑΡΑΪΝΦΛΟΥΕΝΤΣΑΣ ΤΗΣ IMAGEN – K6103
REAGENT G

1,4mL αντιδραστηρίου του ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN Τύπων 1, 2 και 3. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα μίγμα 3 κεκαθαρμένων μυοειδών μονοκλωνικών αντισωμάτων ειδικών για τους τύπους ιού παραϊνφλουέντσας 1, 2 και 3, συζευγμένο με FITC, αραιωμένο σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών σταθεροποιημένο σε πρωτεΐνη που περιέχει χρωστική κυανού του Evans ως επίχρωση. Τα μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν έναντι της πρωτεΐνης Παραϊνφλουέντσας 1 F, πρωτεΐνης αιμοσυγκολλητίνης Παραϊνφλουέντσας 2 και πρωτεΐνη αιμοσυγκολλητίνης Παραϊνφλουέντσας 3 αντίστοιχα.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΙΟΥ ΠΑΡΑΪΝΦΛΟΥΕΝΤΣΑΣ ΤΗΣ IMAGEN ΤΥΠΩΝ 1, 2 ΚΑΙ 3 – K6104
REAGENT 1

1,4mL αντιδραστηρίου του ιού παραϊνφλουέντσας 1 της IMAGEN. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα κεκαθαρμένο μυοειδές μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για τον τύπο ιού παραϊνφλουέντσας 1 (που στοχεύει έναντι της πρωτεΐνης Παραϊνφλουέντσας 1 F), συζευγμένο με FITC, αραιωμένο σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών σταθεροποιημένο σε πρωτεΐνη που περιέχει χρωστική κυανού του Evans ως επίχρωση.

REAGENT 2
1,4mL αντιδραστηρίου του ιού παραϊνφλουέντσας 2 της IMAGEN. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα κεκαθαρμένο μυοειδές μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για τον τύπο ιού παραϊνφλουέντσας 2 (που στοχεύει έναντι της πρωτεΐνης αιμοσυγκολλητίνης Παραϊνφλουέντσας 2 F), συζευγμένο με FITC, αραιωμένο σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωφορικών σταθεροποιημένο σε πρωτεΐνη που περιέχει χρωστική κυανού του Evans ως επίχρωση.

REAGENT 3
1,4mL αντιδραστηρίου του ιού παραϊνφλουέντσας 3 της IMAGEN. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα κεκαθαρμένο μυοειδές μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για τον τύπο ιού παραϊνφλουέντσας 3 (που στοχεύει έναντι της πρωτεΐνης αιμοσυγκολλητίνης Παραϊνφλουέντσας 3 F), συζευγμένο με FITC, αραιωμένο σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών σταθεροποιημένο σε πρωτεΐνη που περιέχει χρωστική κυανού του Evans ως επίχρωση.

5.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΚΙΤ

Με σκοπό την εξασφάλιση της βέλτιστης απόδοσης του κιτ, είναι σημαντικό ότι όλα τα μη χρησιμοποιημένα συστατικά να φυλάσσονται σύμφωνα με τις παρακάτω οδηγίες.

5.3. ΠΛΑΚΕΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ - [POSITIVE CONTROL SLIDE]
Οι πλάκες θετικών υλικών ελέγχου παρέχονται σφραγισμένες μεμονωμένα σε μεμβρανώδη σακούλες γεμάτες με άζωτο. Αποθηκεύστε τις μη χρησιμοποιημένες πλάκες στους 2-8°C. Η πλάκα πρέπει να παραμένει στη σακούλα της για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) πριν το άνοιγμα.

Χρωματίστε την πλάκα αμέσως μετά το άνοιγμα.

5.4. ΥΓΡΟ ΣΤΕΡΕΩΣΗΣ - [MOUNTING FLUID]

Ετοιμο για χρήση. Αποθηκεύστε το μη χρησιμοποιημένο υγρό στερέωσης στους 2-8°C. Το υγρό στερέωσης πρέπει να παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά πριν τη χρήση.

5.5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΟΜΑΔΑ, 1, 2 ΚΑΙ 3 - [REAGENT G]/[REAGENT 1]/[REAGENT 2]/[REAGENT 3]

Ετοιμο για χρήση. Αποθηκεύστε τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια στους 2-8°C. Τα αντιδραστήρια πρέπει να παραμένουν σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά πριν τη χρήση.

6. ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

6.1. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Φρέσκια ακετόνη (για καθήλωση).

Αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS) pH 7,5 για έκπλυση δειγμάτων που έχουν χρωματιστεί και για παρασκευή δειγμάτων.

6.2. ΠΑΡΕΛΚΟΜΕΝΑ

Τα παρακάτω προϊόντα προορίζονται για χρήση σε συνδυασμό με τα K6103 και K6104. Επικοινωνήστε με την τοπική το διανομέα της για περισσότερες πληροφορίες.

Γυάλινες πλάκες μικροσκοπίου επικαλυμμένες με τεφλόν με μικρούποδοχές μονής διαμέτρου 6mm (100 πλάκες ανά κουτί) που διατίθενται από την τοπική διανομέα της (Αρ. Κωδικού S6114).

Πλάκες θετικών υλικών ελέγχου (Αρ. Κωδικού S6111).

7. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Απαιτείται ο παρακάτω εξοπλισμός:

Πιπέτα ακριβείας και αναλώσιμα ρύγχη για χορήγηση 25μL.

Υδατόλουτρο.

Καλυπτρίδες κατάλληλες για την κάλυψη μικρούποδοχής διαμέτρου 6mm.

Μη φθορίζον έλαιο εμβάπτισης.

Μικροσκόπιο επιφθορισμού με σύστημα φίλτρου για FITC (μήκος κύματος μέγιστης διέγερσης 490nm, μέση τιμή μήκους κύματος εκπομπής 520nm) και μεγέθυνση x200 x500.

Θάλαμος επώασης στους 37°C.

Φυγόκεντρο μικρής ταχύτητας.

Για άμεσα δείγματα

Εξαγωγέας βλέννας.

Για επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

Αποστεριωμένους στυλεοί, ικό μέσο μεταφοράς (VTM) και δοχείο κατάλληλο για συλλογή, μεταφορά και κυτταροκαλλιέργεια ιών παραϊνφλουέντσας. Για πληροφορίες σχετικά με τη χρήση κατάλληλου VTM παρακαλώ δείτε την αναφορά 13 στην Ενότητα 13 (που διατίθεται από την τοπική θυγατρική της Oxoid).

Οι σειρές κυτταροκαλλιέργειας συνιστώνται για καλλιέργεια και απομόνωση των ιών παραϊνφλουέντσας.

Πλάκα αρνητικού υλικού ελέγχου παρασκευασμένη από μη μολυσμένα ανέπαφα κύτταρα του τύπου που χρησιμοποιείται στηνκυτταροκαλλιέργεια και απομόνωση ιών παραϊνφλουέντσας. Τα κύτταρα πρέπει να παρασκευάζονται και να καθηλώνονται όπως περιγράφεται στην Ενότητα 9.1 και να υπόκεινται σε χρώση όπως περιγράφεται στην Ενότητα 10.

8. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

[IVD] - Για διαγνωστική χρήση *in vitro*. Οποιοσδήποτε εκτελεί έναν προσδιορισμό με το προϊόν αυτό πρέπει να είναι εκπαιδευμένος στη χρήση του και πεπειραμένος σε εργαστηριακές διαδικασίες.

8.1. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

8.1.1 Τα αντιδραστήρια της εξέτασης ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN περιέχουν αζίδιο του νατρίου <0.1%, το οποίο είναι δηλητήριο. Το αζίδιο του νατρίου είναι

πιθανό να αντιδράσει με τις υδραυλικές σωληνώσεις από μολύβδο και χαλκό για το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων μετάλλων. Πάντοτε να απορρίπτετε τα υλικά που περιέχουν αζίδιο πλύνοντάς τα με μεγάλες ποσότητες νερού.

8.1.2 Οι ιοί παραϊνφλουέντσας στην πλάκα προτύπων ελέγχου φαίνεται ότι δεν είναι μολυσματικοί στην κυτταροκαλλιέργεια, ωστόσο, οι πλάκες πρέπει να χειρίζονται και να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικές.

8.1.3 Το αντιδραστήριο περιέχει χρωστική Evans blue. Αν και αυτή η ουσία βρίσκεται σε χαμηλή συγκέντρωση, με αποτέλεσμα το προϊόν να μην ταξινομείται ως καρκινογόνο, η επαφή με το δέρμα θα πρέπει να αποφεύγεται.

8.1.4 Ο χειρισμός του υγρού στερέωσης θα πρέπει να γίνεται με προσοχή, καθώς περιέχει γνωστή ουσία που ερεθίζει το δέρμα. Αν και αυτή η ουσία βρίσκεται σε χαμηλή συγκέντρωση, με αποτέλεσμα το προϊόν να μην ταξινομείται ως ερεθιστικό, σε περίπτωση επαφής με το δέρμα, θα πρέπει να εκπλύνεται με άφθονο νερό.

8.1.5 Μην τρώτε, μην πίνετε, μην καπνίζετε, μη φουλάσετε και μην προετοιμάζετε τρόφιμα, ή μην εφαρμόζετε καλλυντικά εντός του καθορισμένου χώρου εργασίας.

8.1.6 Μην αναρροφάτε με πιπέτα υλικά με το στόμα.

8.1.7 Φοράτε αναλώσιμα γάντια κατά το χειρισμό κλινικών δειγμάτων και μολυσμένων κυττάρων και να πλένετε πάντοτε τα χέρια σας μετά την εργασία με μολυσματικά υλικά.

8.1.8 Απορρίψτε όλα τα κλινικά δείγματα σύμφωνα με την τοπική νομοθεσία.

8.1.9 Διατίθενται κατόπιν αιτήματος δελτία δεδομένων ασφαλείας για επαγγελματίες χρήστες.

8.2. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

8.2.1 Τα συστατικά δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες. Μην αναμειγνύετε και μην εναλλάσσεται διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων.

8.2.2 Τα αντιδραστήρια παρέχονται σε σταθερές συγκεντρώσεις εργασίας. Η απόδοση της εξέτασης είναι δυνατόν να επηρεαστεί δυσμενώς αν τα αντιδραστήρια τροποποιηθούν ή αποθηκευτούν υπό συνθήκες διαφορετικές από εκείνες που αναγράφονται λεπτομερώς στην Ενότητα 5.

8.2.3 Τα τυποποιημένα αντιδραστήρια δεν πρέπει να αναμειγνύονται, ή να χρησιμοποιούνται μαζί πάνω σε μια μικρούποδοχή πλάκας, καθώς η απόδοση της εξέτασης είναι πιθανόν να επηρεαστεί δυσμενώς.

8.2.4 Παρασκευάστε φρέσκο Αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο σε φωσφορικά (PBS) όπως απαιτείται την ημέρα της χρήσης του.

8.2.5 Η πλύση σε PBS είναι αναγκαία. Η χρήση άλλων διαλυμάτων πλύσης όπως νερό βρύσης ή απεσταγμένο νερό θα επηρεάσει τα αποτελέσματα της εξέτασης.

8.2.6 Αποφύγετε μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.

8.2.7 Τα αντιδραστήρια δεν πρέπει να έχουν καταψυχθεί.

9. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η συλλογή και παρασκευή δειγμάτων είναι μεγάλης σημασίας στη διάγνωση του ιού παραϊνφλουέντσας με κυτταροκαλλιέργεια. Τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται από την περιοχή της λοίμωξης κατά τη διάρκεια του χρόνου κορύφωσης της ικής αποβολής

έτσι ώστε να περιέχουν όσο το δυνατόν περισσότερο μολυσμένο υλικό. Το ανασπνευστικό δείγμα που συνιστάται είναι μια ρινοφαρυγγική αναρρόφηση (NPA) η οποία μπορεί να χορηγήσει μεγάλους αριθμούς αναπνευστικών επιθηλιακών κυττάρων.

9.1. ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

9.1.1 Ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις/εκκρίσεις

Συλλογή

Συλλέξτε δείγματα από τη ρινοφαρυγγική περιοχή σε εξαγωγέα βλέννας μέσω ενός σωλήνα σίτισης μεγέθους 8. Ο εξαγωγέας βλέννας και ο σωλήνας πρέπει να συντηρηθούν στους 2-8°C και να σταλούν στο εργαστήριο για επεξεργασία όσο το δυνατόν συντομότερα.

Διαχωρισμός κυττάρων

Αν είναι αναγκαίο προσθέστε στο δείγμα 2mL αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS) πριν τη φυγοκέντρωση για να μειώσετε τη γλοιότητα και να αραιώσετε τη βλέννα. Φυγοκεντρίστε τον εξαγωγέα βλέννας σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 10 λεπτά στα 380g. Αφαιρέστε το υπερκείμενο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για κυτταροκαλλιέργεια. Επανεναωρήστε την εναπόθεση κυττάρων σε 2mL PBS και απαλά διανείμετε με πιπέτα τα κύτταρα πάνω και κάτω με πιπέτα μεγάλης διάτρησης ή αναμίξτε ομαλά με συσκευή περιδίνησης (vortex), μέχρι να διασπαστεί η βλέννα και να απελευθερωθεί το κυτταρικό υλικό. Αποφύγετε την έντονη διανομή με πιπέτα/περιδίνηση προς αποφυγήν βλάβης των κυττάρων. Όταν ληφθεί ομαλό εναιώρημα προσθέστε επιπλέον PBS όπως απαιτείται και διανείμετε με πιπέτα ή αναμίξτε με συσκευή περιδίνησης μετά την προσθήκη του συμπληρωματος PBS για να πλύνετε τα κύτταρα περισσότερο. Αφαιρέστε ή απορρίψτε οποιεσδήποτε ορατές νιφάδες βλέννας που έχουν απομείνει στο στάδιο αυτό. Η περίσσεια βλέννας πρέπει να αφαιρείται καθώς εμποδίζει την επαρκή διείσδυση αντιδραστηρίου και είναι πιθανόν να οδηγήσει σε μη ειδικό φθορισμό.

Αν όλες οι εκκρίσεις παραμένουν στο σωλήνα σίτισης και καμία δεν φτάσει στον εξαγωγέα βλέννας, εκπλύνετε όλες τις εκκρίσεις από το σωλήνα σε PBS. Αυτό επιτυγχάνεται ευκολότερα εισάγοντας μια πιπέτα *pasteur* στο τέλος του σωλήνα ο οποίος είχε προσαρτηθεί στον εξαγωγέα βλέννας. Απορροφήστε το ανάλογο υγρό στο σωλήνα και αποβάλετέ το επανειλημμένα μέχρι να απομακρυνθούν οι εκκρίσεις που έχουν προσκολληθεί στα τοιχώματα του σωλήνα. Διανείμετε με πιπέτα πάνω και κάτω το εναιώρημα μέχρι η βλέννα να διασπαστεί επαρκώς.

Παρασκευή πλακών

Μετά την ολοκλήρωση της επεξεργασίας διαχωρισμού κυττάρων, φυγοκεντρίστε το εναιώρημα κυττάρων που προέκυψε σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 10 λεπτά στα 380g και απορρίψτε το υπερκείμενο. Επανεναωρήστε την εναπόθεση κυττάρων σε αρκετό PBS για να αραιώσετε τυχόν υπολειπόμενη βλέννα, ενώ ταυτόχρονα διατηρείτε υψηλή πυκνότητα κυττάρων. Τοποθετήστε 25μL της επανεναωρημένης εναπόθεσης κυττάρων σε περιοχές μικρούποδοχών διαμέτρου 6mm πάνω στην πλάκα.

Απαιτείται μία μικρούποδοχή της εξέτασης Ομάδας ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Αρ. Κωδικού K6103). Απαιτούνται τρεις μικρούποδοχές για την εξέταση των Τύπων ιού παραϊνφλουέντσας 1, 2, και 3 IMAGEN (Αρ. Κωδικού K6104).

Αφήστε το δείγμα να στεγνώσει στον αέρα ολοκληρωτικά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και καθηλώστε το σε φρέσκια ακετόνη σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 10 λεπτά. Αν το

δείγμα δεν υποστεί χρώση αμέσως φυλάξτε το στους –70°C μέχρι να χρειαστεί. Οι αποθηκευμένες πλάκες πρέπει να εξετάζονται εντός δύο εβδομάδων από την παρασκευή καθώς είναι πιθανόν να συμβεί αλλοίωση κατά τη μακροχρόνια αποθήκευση.

9.2. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ Εμβολιασμός κυτταροκαλλιέργειας

Τα δείγματα που συλλέγονται για τη διάγνωση των λοιμώξεων του ιού παραϊνφλουέντσας πρέπει να εμβολιάζονται στις κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιούνται κατά τη διαδικασία ρουτίνας στο εργαστήριο σύμφωνα με τις καθιερωμένες εργαστηριακές μεθόδους. Οι κυτταροκαλλιέργειες πρέπει να εξετάζονται τακτικά για την παρουσίαση κυτταροπαθολογικής επίδρασης (CPE) και ανά τακτά χρονικά διαστήματα να διεξάγονται εξετάσεις αιμοπροσρόφησης. Οποιοσδήποτε θετικές κυτταροκαλλιέργειες αιμοπροσρόφησης ή κυτταροκαλλιέργειες που δείχνουν οποιαδήποτε CPE, πρέπει να συλλέγονται και να εξετάζονται για την παρουσία ιών παραϊνφλουέντσας.

Παρασκευή πιακών

Ξύστε τη στρώση κυττάρων στο μέσο καλλιέργειας με χρήση αποστειρωμένης πιπέτας. Εναποθέστε τα κύτταρα με φυγοκέντρωση κυττάρων στους 200g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και αφαιρέστε το υπερκείμενο.

Πλύνετε τα κύτταρα επανειαιώνοντας την εναπόθεση κυττάρων σε PBS και επαναλάβετε τη φυγοκέντρωση. Αφαιρέστε το υπερκείμενο και επανειαιώρηστε την εναπόθεση κυττάρων σε μικρό όγκο (75-100μL ανά σωλήνα κυτταροκαλλιέργειας) φρέσκου PBS για να διατηρήσετε υψηλή πυκνότητα κυττάρων.

Τοποθετήστε 25μL κλάσματα της εναπόθεσης κυττάρων σε μεμονωμένες μικρούποδοχές πάνω στις πλάκες.

Απαιτείται μία μικρούποδοχή της εξέτασης Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Αρ. Κωδικού K6103).

Απαιτούνται τρεις μικρούποδοχές για την εξέταση των Τύπων ιού παραϊνφλουέντσας 1, 2, και 3 της IMAGEN (Αρ. Κωδικού K6104).

Αφήστε το δείγμα να στεγνώσει στον αέρα ολοκληρωτικά και καθηλώστε το σε φρέσκια ακετόνη σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 10 λεπτά. Αν το δείγμα δεν υποστεί χρώση αμέσως, φυλάξτε το στους 4°C κατά τη διάρκεια της νύκτας ή καταψύξτε το στους –20°C για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης. Οι αποθηκευμένες πλάκες πρέπει να εξετάζονται εντός δύο εβδομάδων από την παρασκευή τους καθώς είναι πιθανόν να συμβεί αλλοίωση κατά τη μακροχρόνια αποθήκευση.

10. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

ΠΑΡΑΚΑΛΩ ΑΝΑΤΡΕΨΤΕ ΣΤΗΝ ΕΝΟΤΗΤΑ 8.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ ΠΡΙΝ ΕΚΤΕΛΕΣΕΤΕ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ.

Για τη διαδικασία εξέτασης της Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Αρ. Κωδικού K6103) ανατρέξτε στην ενότητα 10.1 και για τη διαδικασία εξέτασης των Τύπων ιού παραϊνφλουέντσας 1, 2, και 3 της IMAGEN (Αρ. Κωδικού K6104) ανατρέξτε στην ενότητα 10.2

10.1. ΟΜΑΔΑ ΙΩΝ ΠΑΡΑΪΝΦΛΟΥΕΝΤΣΑΣ της IMAGEN - K6103

10.1.1 Προσθήκη αντιδραστηρίου

Προσθέστε 25μL Αντιδραστηρίου G στην καθηλωμένη παρασκευή κυττάρων (δείτε Ενότητα 9.1), στις πλάκες θετικού και αρνητικού υλικού ελέγχου. Βεβαιωθείτε ότι το αντιδραστήριο καλύπτει ολόκληρη την περιοχή της μικρούποδοχής.

10.1.2 Πρώτη επώαση

Επωάστε τις πλάκες με το αντιδραστήριο σε **θάλαμο υγρασίας για 15 λεπτά** στους **37°C**. **Μην** αφήσετε το αντιδραστήριο να στεγνώσει πάνω στο δείγμα, καθώς αυτό προκαλεί την εμφάνιση μη ειδικής χρώσης.

10.1.3 Πλύση της πλάκας

Πλύνετε την περίσσεια αντιδραστηρίου με αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS) και μετά απαλά πλύνετε την πλάκα σε λουτρό ανάδευσης που περιέχει PBS για 5 λεπτά. Αποστραγγίστε το PBS και αφήστε την πλάκα να στεγνώσει με αέρα σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C).

10.1.4 Προσθήκη υγρού στερέωσης

Προσθέστε μία σταγόνα υγρού στερέωσης στο κέντρο κάθε μικρούποδοχής και τοποθετήστε μια καλυπτρίδα πάνω από το υγρό στερέωσης και το δείγμα εξασφαλίζοντας ότι δεν έχουν παγιδευτεί φυσαλίδες αέρα.

10.1.5 Ανάγνωση της πλάκας

Εξετάστε ολόκληρη την περιοχή μικρούποδοχής που περιέχει το κεχρωσμένο δείγμα χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο επιφθορισμού. Ο φθορισμός, όπως περιγράφεται στην Ενότητα 11, πρέπει να είναι ορατός σε μεγέθυνση x200 x500. (Για καλύτερα αποτελέσματα οι πλάκες πρέπει να εξετάζονται αμέσως μετά τη χρώση, αλλά πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C, στο σκοτάδι, για μέχρι 72 ώρες).

10.2. ΤΥΠΟΙ ΙΩΝ ΠΑΡΑΪΝΦΛΟΥΕΝΤΑΣ 1, 2 ΚΑΙ 3 ΤΗΣ IMAGEN – K6104

10.2.1 Προσθήκη αντιδραστηρίου

Προσθέστε 25μL Αντιδραστηρίου 1 στην πρώτη μικρούποδοχή, 25μL Αντιδραστηρίου 2 στη δεύτερη μικρούποδοχή και 25μL Αντιδραστηρίου 3 στην τρίτη μικρούποδοχή της καθηλωμένης παρασκευής κυττάρων (δείτε Ενότητα 9.1), σε πλάκες θετικών και αρνητικών υλικών ελέγχου. Βεβαιωθείτε ότι το αντιδραστήριο καλύπτει ολόκληρη την περιοχή της μικρούποδοχής.

10.2.2 Πρώτη επώαση

Επωάστε τις πλάκες με το αντιδραστήριο σε **θάλαμο υγρασίας για 15 λεπτά** στους **37°C**. **Μην** αφήσετε το αντιδραστήριο να στεγνώσει πάνω στο δείγμα καθώς αυτό προκαλεί την εμφάνιση μη ειδικής χρώσης.

10.2.3 Πλύση της πλάκας

Πλύνετε την περίσσεια αντιδραστηρίου με αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS) και μετά απαλά πλύνετε την πλάκα σε λουτρό ανάδευσης που περιέχει PBS για 5 λεπτά. Αποστραγγίστε το PBS και αφήστε την πλάκα να στεγνώσει με αέρα σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C).

10.2.4 Προσθήκη υγρού στερέωσης

Προσθέστε μία σταγόνα υγρού στερέωσης στο κέντρο κάθε μικρούποδοχής και τοποθετήστε μια καλυπτρίδα πάνω από το υγρό στερέωσης και το δείγμα εξασφαλίζοντας ότι δεν έχουν παγιδευτεί φυσαλίδες αέρα.

10.2.5 Ανάγνωση της πλάκας

Εξετάστε ολόκληρη την περιοχή μικρούποδοχής που περιέχει το κεχρωσμένο δείγμα χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο επιφθορισμού. Ο φθορισμός, όπως περιγράφεται στην

Ενότητα 11, πρέπει να είναι ορατός σε μεγέθυνση x200 x500. (Για καλύτερα αποτελέσματα οι πλάκες πρέπει να εξετάζονται αμέσως μετά τη χρώση, αλλά πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C, στο σκοτάδι, για μέχρι 72 ώρες).

11. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

11.1. ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

11.1.1 Πλάκα θετικών υλικών ελέγχου

Οταν η πλάκα θετικών υλικών ελέγχου χρωσθεί και ανασκοπηθεί όπως περιγράφεται στην Ενότητα 10, πρέπει να δείχνει κύτταρα με ενδοκυτταρικό πυρηνικό ή/και κυτταροπλασματικό φθορισμό πράσινου μήλου που έρχεται σε αντίθεση με το υπόβαθρο υλικού με ερυθρή επίχρωση. Οι πλάκες θετικών υλικών ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιούνται για να ελέγξουν ότι η διαδικασία χρώσης έχει πραγματοποιηθεί ικανοποιητικά.

Οι πλάκες αυτές παρασκευάζονται από χρώσεις ιού παραϊνφλουέντσας σε μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας και παρέχουν επαρκή έλεγχο μόνο για τη διαδικασία εξέτασης και όχι για τα βήματα επεξεργασίας δειγμάτων. Οι διαδικασίες επεξεργασίας δειγμάτων πρέπει να ελέγχονται χρησιμοποιώντας θετικό κλινικό υλικό.

11.1.2 Αρνητικό υλικό ελέγχου

Οι πλάκες αρνητικού υλικού ελέγχου πρέπει να παρασκευάζονται από μη μολυσμένα ανέπαφα κύτταρα του τύπου που χρησιμοποιείται στην κυτταροκαλλιέργεια και απομόνωση ιών παραϊνφλουέντσας. Τα κύτταρα αυτά πρέπει να παρασκευάζονται και να καθηλώνονται όπως περιγράφεται στην Ενότητα 9.2 και να υπόκεινται σε χρώση όπως περιγράφεται στην Ενότητα 10. Τα κύτταρα στην πλάκα αρνητικού υλικού ελέγχου χρωματίζονται ερυθρά με επίχρωση κυανού του Evans.

Οι πλάκες που παρασκευάζονται με τον τρόπο αυτό παρέχουν επαρκή έλεγχο μόνο για τη διαδικασία εξέτασης και όχι για τα βήματα επεξεργασίας δειγμάτων. Τα βήματα επεξεργασίας δειγμάτων πρέπει να ελέγχονται χρησιμοποιώντας αρνητικό κλινικό υλικό.

11.2. ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

11.2.1 Εμφάνιση μολυσμένων κυττάρων ιού παραϊνφλουέντσας

Στα ανασπνευστικά επιθηλιακά κύτταρα που έχουν μολυνθεί με ιό πραινφλουένζας έχει παρατηρηθεί ενδοκυτταρικός, πυρηνικός ή/και κυτταροπλασματικός κοκκώδης φθορισμός πράσινου μήλου.

Τα μη μολυσμένα κύτταρα χρωματίζονται ερυθρά με επίχρωση κυανού του evans.

11.2.2 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Πραγματοποιείται θετική διάγνωση όταν ένα ή περισσότερα κύτταρα στο καθηλωμένο δείγμα που έχει υποστεί χρώση, δείχνουν τον ειδικό φθορισμό που περιγράφεται στην Ενότητα 11.2.1 με το αντιδραστήριο της Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN ή με ένα από τα μεμονωμένα αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN Τύπων 1, 2 και 3. Το αποτέλεσμα πρέπει να ερμηνεύεται ως θετικό για το αντιγόνο ιού παραϊνφλουέντσας.

Πραγματοποιείται αρνητική διάγνωση όταν τα καθηλωμένα δείγματα που έχουν υποστεί χρώση δεν εκδηλώνουν φθορισμό ούτε με το αντιδραστήριο Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN ούτε με κανένα από τα μεμονωμένα αντιδραστήρια

ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN Τύπων 1, 2 και 3. Το αποτέλεσμα πρέπει να ερμηνεύεται ως αρνητικό για το αντιγόνο ιού παραϊνφλουέντσας, και πρέπει να ακολουθήσει αποτέλεσμα κυτταροκαλλιέργειας.

Για τα ρινοφαρυγγικά δείγματα αναρρόφησης που υπέστησαν άμεση χρώση, πρέπει να παρατηρηθούν τουλάχιστον 20 μη μολυσμένα αναπνευστικά επιθηλιακά κύτταρα, πριν να αναφερθεί κάποιο αρνητικό αποτέλεσμα. Δείτε την ενότητα 11.2.3 αν υπάρχουν μη μολυσμένα κύτταρα.

11.2.3 Ανεπαρκή κύτταρα

Αν υπάρχουν ανεπαρκή κύτταρα στην πλάκα, το υπόλοιπο του κλινικού δείγματος πρέπει να φυγοκεντρείται στα 380g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C). Επανεκαιωρήστε σε μικρότερο όγκο PBS πριν την κατανομή εκ νέου (25μL) στις περιοχές μικρούποδοχών. Εναλλακτικά, πρέπει να απαιτείται μια επανάληψη κλινικού δείγματος.

11.3. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ

11.3.1 Εμφάνιση μολυσμένων κυττάρων ιού παραϊνφλουέντσας

Τα μολυσμένα κύτταρα παρουσιάζουν ενδοκυτταρικό, πυρηνικό ή/και κυτταροπλασματικό φθορισμό πράσινου μήλου και πρέπει να καταγράφονται ως θετικά για την παραϊνφλουέντσα.

Τα μη μολυσμένα κύτταρα χρωματίζονται ως ερυθρά με επίχρωση κυανού του evans και πρέπει να καταγράφονται ως αρνητικά για την πραινφλουέζα.

11.3.2 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Πραγματοποιείται θετική διάγνωση όταν ένα ή περισσότερα κύτταρα στο καθηλωμένο δείγμα που έχει υποστεί χρώση, δείχνουν την τυπική μορφολογία φθορισμού που περιγράφεται στην Ενότητα 11.3.1 με το αντιδραστήριο Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN ή με ένα από τα μεμονωμένα αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN Τύπων 1, 2 και 3. Πριν αναφερθεί αρνητικό αποτέλεσμα πρέπει να παρατηρηθούν σε κάθε μικρούποδοχή πλάκας τουλάχιστον 50 μη μολυσμένα κύτταρα από την κυτταροκαλλιέργεια που εξετάστηκε. Δείτε την ενότητα 11.2.3 αν υπάρχουν μη μολυσμένα κύτταρα.

11.3.3 Ποιοτικός έλεγχος

Τα θετικά και αρνητικά υλικά ελέγχου πρέπει να υπόκεινται σε χρώση και να εξετάζονται σε κάθε περίπτωση που τα αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της παρουσίας ιού παραϊνφλουέντσας σε μολυσμένες κυτταροκαλλιέργειες.

Οι πλάκες θετικών υλικών ελέγχου που παρέχονται εξυηρετούν ως κατάλληλος έλεγχος για τον προσδιορισμό της σωστής απόδοσης της τεχνικής χρώσης και αντιδραστικότητας του αντιδραστηρίου με τα μολυσμένα κύτταρα ιού παραϊνφλουέντσας. Επιπλέον πλάκες θετικών υλικών ελέγχου διατίθενται από την Oxoid, (Αρ. Κωδικού S6111).

Τα αντιδραστήρια και η τεχνική πρέπει επίσης να ελέγχονται με τη χρήση επιχρίσματος αρνητικού υλικού ελέγχου κυττάρων που παρασκευάστηκαν από μη εμβολιασμένη (μη μολυσμένη) κυτταροκαλλιέργεια του τύπου που χρησιμοποιείται για την απομόνωση ιών παραϊνφλουέντσας.

Αν παρατηρηθούν ανεπαρκή κύτταρα (λιγότερα από 50) στην εξέταση ή την παρασκευή μικρούποδοχής πλάκας αρνητικού υλικού ελέγχου, τότε το υπόλοιπο του δείγματος κυτταροκαλλιέργειας πρέπει να φυγοκεντρίσει στα 200g

για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και να επανεκαιωρηθεί σε μικρότερο όγκο PBS (περίπου 50μL). Τοποθετήστε 25μL εκαιωρήματος κυττάρων σε μεμονωμένες μικρούποδοχές και επεξεργαστείτε όπως περιγράφεται στις ενότητες 9 και 10.

Αν χρησιμοποιηθούν και τα δύο αντιδραστήρια της Ομάδας και Τύπου ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και ληφθούν αρνητικά αποτελέσματα με τα τρία μεμονωμένα αντιδραστήρια, αφού ληφθεί θετικό αποτέλεσμα με το αντιδραστήριο ομάδας, πρέπει να παρασκευαστούν επιπλέον επιχρίσματα κυττάρων και να επαναληφθεί η εξέταση. Εναλλακτικά, η κυτταροκαλλιέργεια πρέπει να ανακαλλιεργηθεί για να ενισχύσει την ποσότητα ιού και τον αριθμό μολυσμένων κυττάρων που υπάρχουν πριν την επανάληψη της εξέτασης ανοσοφθορισμού.

12. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

12.1. Χρησιμοποιείτε μόνο το υγρό στερέωσης που παρέχεται.

12.2. Μερικές φορές παρατηρείται μη ειδική χρώση ως τέχνημα σε ανοσοχημικές εξετάσεις εξαιτίας της δέσμησης ανάμεσα στις περιοχές αντισώματος Fc και το πρωτεϊνικό αντιγόνο Α που εντοπίζεται στο κυτταρικό τοίχωμα μερικών στελεχών του *Staphylococcus aureus*. Τα αντιδραστήρια εξέτασης ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN έχουν τροποποιηθεί για να μειώσουν τη δέσμηση στην πρωτεΐνη Α του στελέχους του *Staphylococcus aureus* Cowan 1. Ωστόσο, το αντίσωμα του αντιδραστηρίου που χρησιμοποιείται στον τύπο 1 ιού παραϊνφλουέντσας είναι πιθανόν να παρουσιάζει πολύ αδύναμη διασταυρούμενη αντίδραση με την Πρωτεΐνη Α του *Staphylococcus aureus*. Ο *Staphylococcus aureus* είναι πιθανό να υπάρχει σε κλινικά δείγματα και επομένως να εμβολιαστεί σε κυτταροκαλλιέργεια όπου η αντιγραφή του πρέπει να εμποδιστεί με αντιμικροβιακούς παράγοντες. Ο *Staphylococcus aureus* εμφανίζεται πάντα ως τετράδα ή στη μορφή συμπλεγματος κόκκων σε σχήμα σταφυλίου (διαμέτρου του καθενός περίπου 1μM) και είναι πιθανόν να είναι εξωκυτταρικός σε αντίθεση με την χαρακτηριστική ενδοκυτταρική, λεπτή κοκκώδη χρώση που παρατηρείται στην κυτταροκαλλιέργεια που έχει μολυνθεί με τον ιό παραϊνφλουέντσας.

12.3. Ο τύπος και η συνθήκη των οργάνων που χρησιμοποιούνται επηρεάζει την οπτική εμφάνιση της εικόνας που λαμβάνεται. Η αντίδραση του καταληκτικού σημείου είναι δυνατόν να ποικίλει εξαιτίας του τύπου μικροσκοπίου που χρησιμοποιείται, της πηγής φωτός, της ηλικίας του λαμπτήρα, της συναρμολόγησης και του πάχους του φίλτρου, των διαφορών στην ευαισθησία του υποστρώματος αντιγόνου ή της διαδικασίας προσδιορισμού που χρησιμοποιείται. Κάθε εργαστήριο πρέπει να καθιερώσει τα δικά του κριτήρια για την ανάγνωση των καταληκτικών σημείων χρησιμοποιώντας κατάλληλα πρότυπα ελέγχου.

12.4. Η αποτυχία ανίχνευσης ιού παραϊνφλουέντσας στην κυτταροκαλλιέργεια ίσως είναι αποτέλεσμα παραγόντων όπως η ακατάλληλη συλλογή, ακατάλληλη δειγματοληψία ή/και χειρισμός δειγμάτων, αποτυχία κυτταροκαλλιέργειας κ.λ.π. Ενα αρνητικό αποτέλεσμα δεν εξαιρεί την πιθανότητα μόλυνσης με ιό παραϊνφλουέντσας.

12.5. Και τα δύο αντιδραστήρια Ομάδας και Τύπων ιού

παραϊνφλουέντσας της IMAGEN αντιδρούν με τα αντιγόνα ιού παραϊνφλουέντσας που υπάρχουν στα μολυσμένα κύτταρα. Ενα θετικό αποτέλεσμα ωστόσο, δεν είναι ένδειξη της βιωσιμότητας παρουσίας ιού παραϊνφλουέντσας.

12.6. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται στα αντιδραστήρια Ομάδας και Τύπων ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN έχουν αναπτυχθεί έναντι των πρωτότυπων στελεχών παραϊνφλουέντσας. Τα αντισώματα είναι πιθανό να μην ανιχνεύσουν όλες τις παραλλαγές αντιγόνων ή τα καινούργια στελέχη του ιού παραϊνφλουέντσας.

12.7. Η διακύμανση αντιγόνου σε επιτόπους που έχουν εντοπιστεί από μονοκλωνικά αντισώματα που υπάρχουν στις εξετάσεις ιού παραϊνφλουέντσας Ομάδας και τυποποίησης παραϊνφλουέντσας της IMAGEN είναι πιθανό να αυξήσουν τις νέες παραλλαγές αντιγόνου οι οποίες είναι πιθανό να μην αναγνωρίζονται πλέον από τα αντισώματα.

12.8. Ο επιτολασμός του αναλυτή επηρεάζει την τιμή πρόβλεψης του προσδιορισμού.

12.9. Η οπτική εμφάνιση της εικόνας φθορισμού που λαμβάνεται είναι πιθανό να ποικίλει εξαιτίας του τύπου μικροσκοπίου και της πηγής φωτός που χρησιμοποιείται.

12.10. Συνιστάται να χρησιμοποιούνται 25μl αντιδραστηρίου για να καλύψουν περιοχή μικρούποδοχής διαμέτρου 6mm. Μείωση στον όγκο αυτό είναι πιθανό να οδηγήσει σε δυσκολίες στην κάλυψη της περιοχής του δείγματος και να μειώσει την ευαισθησία.

12.11. Τα αντιδραστήρια παρέρχονται σε σταθερές συγκεντρώσεις εργασίας. Η απόδοση της εξέτασης είναι δυνατό να επηρεαστεί αν τα αντιδραστήρια τροποποιηθούν με οποιοδήποτε τρόπο ή δεν αποθηκευτούν υπό τις συνθήκες που συνιστώνται.

12.12. Τα αποτελέσματα της εξέτασης πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις διαθέσιμες πληροφορίες από επιδημιολογικές μελέτες, κλινική εκτίμηση του ασθενούς και άλλες διαγνωστικές διαδικασίες.

13. ANAMENOMENES TIMES

Το ποσοστό απομόνωσης για τους ιούς παραϊνφλουέντσας είναι δυνατόν να ποικίλει ανάλογα με τον τύπο εξέτασης που χρησιμοποιείται, το χρόνο και το σημείο της συλλογής δειγμάτων, το χειρισμό, την αποθήκευση και μεταφορά των δειγμάτων. Επίσης εξαρτάται από τα ποσοστά επιτολασμού πληθυσμού, καθώς επίσης και την ηλικία, τη γεωγραφική τοποθεσία και την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση του πληθυσμού που εξετάζεται.

Οι τύποι 1, 2 και 3 ιού παραϊνφλουέντσας είναι κυρίαρχοι σε ολόκληρο τον κόσμο και σχετίζονται με λοιμώξεις της αναπνευστικής οδού σε εύκρατα, τροπικά και αρκτικά κλίματα.¹⁰ Οι περισσότερες λοιμώξεις συμβαίνουν σε βρέφη κάτω των 5 ετών στα οποία οι ιοί παραϊνφλουέντσας λογοδοτούν για το 20% των λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού και 30-40% των περιπτώσεων λαρυγγγοτραχειοβρογχίτιδας.^{11,12}

Πάνω από το 90% των βρεφών υφίστανται πρωταρχική λοίμωξη με ιό παραϊνφλουέντσας και μέχρι το 50% είναι πιθανό να υποστούν συμπτωματικές επαναλοιμώξεις.²

Οι ιοί παραϊνφλουέντσας δείχνουν υψηλά ποσοστά επιτολασμού κατά τη διάρκεια εποχιακών εκρήξεων

λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού. Στις εύκρατες ζώνες οι ιοί παραϊνφλουέντσας είναι πιο κοινά συνδεδεμένοι με ξεσπάσματα το φθινόπωρο και τους χειμερινούς μήνες.^{13,14} Σε μερικές χώρες τα ξεσπάσματα λοιμώξεων ιού παραϊνφλουέντσας τύπου 3 είναι πιθανό να συμβούν την άνοιξη και τους καλοκαιρινούς μήνες.³

Τα υψηλότερα ποσοστά προσβολής συμβαίνουν στα παιδιά ηλικίας 1 ως 5 χρονών. Οι λοιμώξεις ή επαναλοιμώξεις σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες συνήθως σχετίζονται με ηπιότερα αναπνευστικά συμπτώματα.

Οι ιοί παραϊνφλουέντσας έχουν ενοχοποιηθεί σε ξεσπάσματα λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού σε νοσοκομεία, ειδικότερα σε παιδιατρικές πτέρυγες και σε γηροκομεία, όπου συνδέονται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα.⁶

Κατά τη διάρκεια του χειμώνα του 1994-1995 η συνολική συχνότητα ιού παραϊνφλουέντσας σε ένα κέντρο δοκιμών βασισμένη σε αποτελέσματα ικής απομόνωσης ήταν 12,5% (21/168) για τον ιό παραϊνφλουέντσας τύπου 1, 1,8% (3/168) για τον ιό παραϊνφλουέντσας τύπου 2 και 14,3% (24/168) για τον ιό παραϊνφλουέντσας τύπου 3.

Τα στοιχεία αυτά δεν αντιπροσωπεύουν ακριβώς τον επιτολασμό ιού παραϊνφλουέντσας στο συνολικό πληθυσμό καθώς τα δείγματα λήφθηκαν από επιλεγμένο πληθυσμό υπό έρευνα για λοιμώξεις της αναπνευστικής οδού.

14. ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

14.1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

14.1.1 Αμεσα δείγματα

Η εξέταση Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και η εξέταση ιού παραϊνφλουέντσας Τύπων 1, 2 και 3 IMAGEN™ αξιολογήθηκαν για άμεση χρήση σε ρινοφαρυγγικά εκκρίματα σε τρία κέντρα, ένα στις Η.Π.Α και δύο στη Μ.Βρετανία. Αμεσα δείγματα συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του χειμώνα 1994-1995.

Η κλινική δοκιμή διεξάχθηκε χρησιμοποιώντας δείγματα ρινοφαρυγγικής αναρρόφησης από ασθενείς με υποψία λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού, τα οποία συλλέχθηκαν και επεξεργάστηκαν όπως περιγράφεται στην ενότητα 9.1.1. Πλάκες καθηλωμένες σε ακετόνη εξετάστηκαν είτε νωπές (αποθηκευμένες στους 2-8°C και εξετασμένες εντός 3 ημερών) ή κατεψυγμένες και εξετασμένες αργότερα. Οι πρότυπες μέθοδοι (αναφοράς) που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μια εξέταση έμμεσου ανοσοφθορισμού και ικής απομόνωσης και αναγνώρισης που διατίθεται εμπορικά.

Κάποιο δείγμα βαθμολογήθηκε ως θετικό με το αντιδραστήριο Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN ή με τα αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3 της IMAGEN™, αν ένα ή περισσότερα αναπνευστικά επιθηλιακά κύτταρα έδειξαν την τυπική μορφολογία φθορισμού που περιγράφηκε στην ενότητα 11.2.1.

14.1.2 Επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

Η εξέταση Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και η εξέταση Τύπων 1, 2 και 3 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN εξετάστηκαν σε κλινικές δοκιμές σε 4 κέντρα εντός της Μ. Βρετανίας. Οι κλινικές δοκιμές διεξάχθηκαν κατά τον Ιούλιο-Οκτώβριο του 1991. Κατά τη διάρκεια του χρόνου αυτού η συνολική συχνότητα του ιού παραϊνφλουέντσας σε ένα κέντρο δοκιμών ήταν 14,4% (15/104) για τον ιό παραϊνφλουέντσας τύπου 1 και 8,7% (9/104) για τον ιό παραϊνφλουέντσας 3. Τα στοιχεία αυτά δεν αντιπροσωπεύουν ακριβώς τον επιτολασμό ιού παραϊνφλουέντσας στο συνολικό πληθυσμό καθώς τα

δείγματα λήφθηκαν από επιλεγμένο πληθυσμό υπό έρευνα για λοιμώξεις της αναπνευστικής οδού. Πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε δείγματα που παρασκευάστηκαν από μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας με κλινικά δείγματα που συλλέχθηκαν από ασθενείς με υποψία λοίμωξης ιού παραϊνφλουέντσας. Οι πρότυπες μελέτες για την αναγνώριση του ιού παραϊνφλουέντσας σε κυτταροκαλλιέργειες ήταν είτε εξετάσεις εξουδετέρωσης ή έμμεσου ανοσοφθορισμού. Τα αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN εξετάστηκαν επίσης για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα έναντι ενός εύρους μικροοργανισμών που ήταν πιθανό να υπάρχουν σε κλινικά δείγματα ρουτίνας (βλείτε Ενότητα 14.3).

14.2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ

14.2.1 Αμεσα δείγματα

Ενα σύνολο 222 δειγμάτων από ασθενείς με υποψία λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού ελέγχθηκε στην εξέταση Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και στην εξέταση ιού παραϊνφλουέντσας τύπων 1, 2 και 3 της IMAGEN. Στο κέντρο της Βορειοανατολικής περιοχής των Η.Π.Α κατά τη διάρκεια του χειμώνα 1994-1995, έγινε συλλογή 184 δειγμάτων από παιδιατρικό πληθυσμό και αξιολογήθηκαν με σκοπό να καθορίσουν την ευαισθησία και ειδικότητα της εξέτασης. Η πλειοψηφία αυτών εξετάστηκε σε σύγκριση με ική απομόνωση και ένας μικρότερος αριθμός εξετάστηκε σε σύγκριση με την αναφορά της εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού. Οι πίνακες 14.1 και 14.2 δείχνουν αποτελέσματα του κέντρου των Η.Π.Α. Στα κέντρα της Μ. Βρετανίας, μια συλλογή δειγμάτων που περιείχαν ιό παραϊνφλουέντσας αξιολογήθηκαν με σκοπό την αύξηση του αριθμού λήψης θετικών δειγμάτων.

Τα αποτελέσματα αυτά φαίνονται στους Πίνακες 14.3 και 14.4. Τα αποτελέσματα που συγκρίνουν τα ποσοστά θετικότητας για τους ιούς παραϊνφλουέντσας σε όλα τα κέντρα φαίνονται στους Πίνακες 14.5 και 14.6.

Ομάδα ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Τύποι 1, 2 και 3)

Στο κέντρο των Η.Π.Α η εξέταση Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Τύποι 1, 2 και 3) έδειξε συσχέτιση του 97,6% έναντι ικής κυτταροκαλλιέργειας και 98,4% έναντι της εξέτασης αναφοράς έμμεσου ανοσοφθορισμού. Η σχετική ευαισθησία και ειδικότητα της εξέτασης Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Τύποι 1, 2 και 3) ήταν 97,9% και 97,5% αντίστοιχα συγκρινόμενη με ική απομόνωση. Σε σύγκριση με την εξέταση αναφοράς έμμεσου ανοσοφθορισμού, η σχετική ευαισθησία και ειδικότητα ήταν 96,2% και 99,0% αντίστοιχα.

Τύπος 1 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN

Στο κέντρο των Η.Π.Α το αντιδραστήριο Τύπου 1 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN έδειξε συσχέτιση, ευαισθησία και ειδικότητα 100% όταν συγκρίθηκε με ική απομόνωση και την εξέταση ανοσοφθορισμού αναφοράς.

Τύπος 2 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN

Στο κέντρο των Η.Π.Α το αντιδραστήριο Τύπου 2 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN έδειξε συσχέτιση, ευαισθησία και ειδικότητα 100% όταν συγκρίθηκε με ική απομόνωση και την εξέταση ανοσοφθορισμού αναφοράς.

Τύπος 3 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN

Στο κέντρο των Η.Π.Α το αντιδραστήριο Τύπου 3 ιού

παραϊνφλουέντσας της IMAGEN έδειξε συσχέτιση του 97,6% και ευαισθησία και ειδικότητα του 91,6% και 98,6% αντίστοιχα όταν συγκρίθηκε με ική απομόνωση. Σε σύγκριση με την εξέταση ανοσοφθορισμού αναφοράς, η συσχέτιση ευαισθησία και ειδικότητα ήταν 98,4%, 75% και 99,1% αντίστοιχα.

Πίνακας 14.1 Σύγκριση απόδοσης των αντιδραστηρίων του ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN με ική απομόνωση σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις στο κέντρο των Η.Π.Α

Αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN				
IMAGEN Αντιδραστήριο ιού παραϊνφλουέντσας	Αρ. δειγμάτων που εξετάστηκαν	Αρ. θετικών δειγμάτων με ική απομόνωση	Ευαισθησία	Ειδικότητα
Παραϊνφλουέντσα 1 (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Παραϊνφλουέντσα 2 (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Παραϊνφλουέντσα 3 (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)
Παραϊνφλουέντσα Group (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)

Πίνακας 14.2 Σύγκριση των αντιδραστηρίων του ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN με ανοσοφθορισμό αναφοράς σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις στο κέντρο των Η.Π.Α

Αντιδραστήρια ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN				
IMAGEN Αντιδραστήριο ιού παραϊνφλουέντσας	Αρ. δειγμάτων που εξετάστηκαν	Αρ. θετικών δειγμάτων με ανοσοφθορισμό αναφοράς	Σχετική ευαισθησία	Σχετική ειδικότητα
Παραϊνφλουέντσα 1 (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Παραϊνφλουέντσα 2 (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Παραϊνφλουέντσα 3 (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Παραϊνφλουέντσα Group (95% Διαστήματα εμπιστοσύνης)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Σημείωση: Παρακαλώ έχετε υπόψη ότι η λέξη “σχετική” αναφέρεται στη σύγκριση των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού αυτού με εκείνα παρόμοιου προσδιορισμού. Δεν υπήρξε προσπάθεια για συσχέτιση των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού με παρουσία ή απουσία νόσου. Δεν μπορεί να παρθεί απόφαση σχετική με τη σύγκριση της ακρίβειας του προσδιορισμού για την πρόβλεψη της νόσου.

Πίνακας 14.3 Σύγκριση απόδοσης αντιδραστηρίων ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN με ική απομόνωση σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις σε 2 κέντρα της Μ. Βρετανίας

Ική απομόνωση αντιδραστήριο της IMAGEN	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό
Παραϊνφλουέντσα 1	n = 35	3	31	0
Παραϊνφλουέντσα 2	n = 35	2	32	1*
Παραϊνφλουέντσα 3	n = 35	27	7	1*
Παραϊνφλουέντσα Group	n = 35	30	0	4***

* Και τα δύο δείγματα είναι επίσης αρνητικά με ανοσοφθορισμό

αναφορές.
** Το δείγμα αυτό ήταν επίσης θετικό με ανοσοφθορισμό αναφορές
*** Αυτά τα δύο δείγματα ήταν επίσης αρνητικά με ανοσοφθορισμό αναφοράς.

Πίνακας 14.4 Σύγκριση απόδοσης των αντιδραστηρίων ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN με ανοσοφθορισμό αναφοράς σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις σε 2 κέντρα της Μ. Βρετανίας

Ανοσοφθορισμός αναφοράς αντιδραστήριο της IMAGEN	Θετικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό
Παραϊνφλουέντσα 1	n = 38	3	35	0
Παραϊνφλουέντσα 2	n = 38	3	35	0
Παραϊνφλουέντσα 3	n = 38	30	8	0
Παραϊνφλουέντσα Group	n = 38	34	2	0

* Ένα δείγμα αναφέρθηκε να περιέχει λίγα κύτταρα.

Πίνακας 14.5 Σύγκριση των ποσοτών θετικότητας παραϊνφλουέντσας με τα αντιδραστήρια της IMAGEN Parainfluenza και ική απομόνωση σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις από όλα τα κέντρα

Αντιδραστήριο της IMAGEN	Αριθμός που ανιχνεύτηκε με ική απομόνωση	Αριθμός που ανιχνεύτηκε με το IMAGEN	% Συμφωνία
Παραϊνφλουέντσα 1	24	24	100%
Παραϊνφλουέντσα 2	6	5	83,3%
Παραϊνφλουέντσα 3	52	49	94,2%
Παραϊνφλουέντσα Group	82	77	93,9%

Πίνακας 14.6 Σύγκριση των ποσοστών θετικότητας παραϊνφλουέντσας με τα αντιδραστήρια της IMAGEN Parainfluenza και ανοσοφθορισμό αναφοράς σε ρινοφαρυγγικές αναρροφήσεις από όλα τα κέντρα

Αντιδραστήριο της IMAGEN	Αριθμός που ανιχνεύτηκε με ανοσοφθορισμό αναφοράς	Αριθμός που ανιχνεύτηκε με το IMAGEN	% Συμφωνία
Παραϊνφλουέντσα 1	24	24	100%
Παραϊνφλουέντσα 2	4	4	100%
Παραϊνφλουέντσα 3	34	33	97,0%
Παραϊνφλουέντσα Group	62	59	95,2%

14.2.2 Επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

Ομάδα ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN

Η εξέταση Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN (Τύποι 1, 2 και 3) έδειξε συσχέτιση του 98,3% με τις πρότυπες μεθόδους (Πίνακας 14.7). Η σχετική ευαισθησία και σχετική ειδικότητα της εξέτασης ήταν 98,3% και 98,5% αντίστοιχα.

Ιός παραϊνφλουέντσας της IMAGEN Τύποι 1, 2 και 3

Οι σχετικές ευαισθησίες για τα αντιδραστήρια μεμονωμένων τύπων 1, 2 και 3 ιού παραϊνφλουέντσας ήταν 96,1%, 100% και 97,4% αντίστοιχα. Οι σχετικές ειδικότητες για τα αντιδραστήρια μεμονωμένων τύπων 1, 2 και 3 ιού παραϊνφλουέντσας ήταν 99,3%, 99,7% και 98,4% αντίστοιχα.

Πίνακας 14.7 Σύγκριση των αντιδραστηρίων ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN με πρότυπες μεθόδους για επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

Αντιδραστήριο του ιού εξεταζόμενων παραϊνφλουέντσας της	Αρ. εξεταζόμενων δειγμάτων	Αρ. θετικών δειγμάτων με πρότυπες μεθόδους	Αντιδραστήρια* του ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN	Σχετική ευαισθησία	Σχετική ειδικότητα*
Παραϊνφλουέντσα 1 (95% Δαστήματα εμπιστοσύνης)	322	51	96,1% (49/51)	99,3% (269/271)	(86,5% - 99,5%)
Παραϊνφλουέντσα 2 (95% Δαστήματα εμπιστοσύνης)	315	24	100% (24/24)	99,7% (290/291)	(85,8% - 100%)
Παραϊνφλουέντσα 3 (95% Δαστήματα εμπιστοσύνης)	345	155	97,4% (151/155)	98,4% (187/190)	(93,5% - 99,3%)
Παραϊνφλουέντσα Group (95% Δαστήματα εμπιστοσύνης)	363	229	98,3% (225/229)	98,5% (132/134)	(95,6% - 99,5%)

- a Τα αποτελέσματα από ένα στα τέσσερα κέντρα δοκιμών περιλαμβάνουν αναλογία δειγμάτων που καταψύχθηκαν.
- b Τα αντιδραστήρια του ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN ανίχνευσαν δύο στελέχη τύπου 1 και ένα στέλεχος τύπου 3 τα οποία δεν είχαν ανιχνευτεί χρησιμοποιώντας τις πρότυπες μεθόδους.

14.3. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Οι μικροοργανισμοί που καταγράφονται σε λίστα στον Πίνακα 14.8 εξετάστηκαν στην εξέταση Ομάδας ιών παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και στην εξέταση Τύπων 1, 2 και 3 ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και δεν έδειξαν διασταυρούμενη αντιδραστικότητα. Πραγματοποιήθηκαν μελέτες διασταυρούμενης αντιδραστικότητας σε παρασκευάσματα πλάκων καλλιέργειας στοκ ή πρόσφατων μικροβιακών απομονώσεων.

Πίνακας 14.8 Οργανισμοί που εξετάστηκαν με όλα τα αντιδραστήρια του ιού παραϊνφλουέντσας της IMAGEN και βρέθηκε ότι δεν ήταν αντιδραστικοί

Μικροοργανισμός	Πηγή	Αρ. δειγμάτων που εξετάστηκαν
Acholeplasma laidlawii	NCTC 10116 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Adenovirus τύπου 1	Κυτταροκαλλιέργεια	9
Adenovirus τύπου 2	Κυτταροκαλλιέργεια	5
Adenovirus τύπου 3	Κυτταροκαλλιέργεια	8
Adenovirus τύπου 4	Κυτταροκαλλιέργεια	3
Adenovirus τύπου 5	Κυτταροκαλλιέργεια	4
Adenovirus τύπου 7	Κυτταροκαλλιέργεια	3
Adenovirus τύπου 10	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Adenovirus τύπου 41	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Bordetella parapertussis	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Bordetella pertussis	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Branhamella catarrhalis	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Candida albicans	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Chlamydia pneumoniae	Κυτταροκαλλιέργεια και μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1 από το καθένα
Chlamydia psittaci	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Chlamydia trachomatis	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Ιός δαμαλίδας	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Ιός κοξάκι τύπου A7	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Ιός κοξάκι τύπου A9	Κυτταροκαλλιέργεια	1

Μικροοργανισμός	Πηγή	Αρ. δειγμάτων που εξετάστηκαν
Ιός κοξάκι τύπου B3	Κυτταροκαλλιέργεια	3
Ιός κοξάκι τύπου B4	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Ιός κοξάκι τύπου B5	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Κυτταρομεγαλοϊός	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Ιός Echo τύπου 5	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Ιός Echo τύπου 11	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Ιός Echo τύπου 19	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Ιός Echo τύπου 30	Κυτταροκαλλιέργεια	4
Ιός Epstein Barr	Συνεχή σειρά κυτταροκαλλιέργειας	1
Escherichia coli	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Ιός Foamy	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Haemophilus influenzae	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας και εναπόθεση Sputum	1 από το καθένα
Ιός Herpes simplex τύπου 1	Κυτταροκαλλιέργεια	3
Ιός Herpes simplex τύπου 2	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Ιός Γρίπης A	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Ιός Γρίπης B	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Klebsiella pneumoniae	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Legionella pneumophila	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Ιός Ιλαράς	Κυτταροκαλλιέργεια	3
Ιός παρωτίτιδας	Κυτταροκαλλιέργεια	8
Mycobacterium avium	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycobacterium intracellulare	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycobacterium tuberculosis	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycoplasma arginini	NCTC 10129 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycoplasma hominis	NCTC 10111 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycoplasma hyorhinus	NCTC 10130 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycoplasma orale	NCTC 10112 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycoplasma pneumoniae	NCTC 10119 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Mycoplasma salivarium	NCTC 10113 ζυμός εναπόθεσης κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria cinerea	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria flavescens	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria gonorrhoeae	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria lactamica	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria meningitidis	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1 από το καθένα
A, B, C & D		
Neisseria mucosa	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria perflava	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Neisseria pharyngis	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1
Ιός παραϊνφλουέντσας 4a	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Pneumocystis carinii	Κλινικό δείγμα	1
Ιός πολιομυελίτιδας 1	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Ιός πολιομυελίτιδας 2	Κυτταροκαλλιέργεια	2
Ιός πολιομυελίτιδας 3	Κυτταροκαλλιέργεια	3
Συγκυτιακός ιός του αναπνευστικού	Κυτταροκαλλιέργεια	8
Ρινοϊός	Κυτταροκαλλιέργεια	6
Ιός Sendai	Κυτταροκαλλιέργεια	1
Στρεπτόκοκκος ομάδες A, B, C, D, F και G	Μέσο κυτταροκαλλιέργειας	1 από το καθένα
Streptococcus pneumoniae	Εναπόθεση Sputum	1
Ιός έρπητα ζωστήρα	Κυτταροκαλλιέργεια	2

15. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Matthew, R.E.F. (1982)

Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the

International Committee on Taxonomy of Viruses.

Intervirolgy 14: 1-199.

- Welliver, R. (1982)
Natural history of parainfluenza virus infection in childhood.
Journal of Paediatrics 101: 180-187
- 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
- Cullen, S.J., Baubliss, J.V. (1980)
Parainfluenza type 3 parotitis in two immunodeficient children.
Journal of Paediatrics 96: 437-438
- Jarvis, W.R., Middleton, A.J., Gelford, E.W. (1979)
Parainfluenza pneumonia in severe combined immunodeficiency.
Journal of Paediatrics 94: 423-429
- Purkiss, D. (1983)
Parainfluenza infections in the elderly.
PHLS Communicable Disease Report 83/19: 3
- McClean, D.M. and Wong, K.K. (1984)
Same day diagnosis of human virus infections.
CRS Press, Boca Raton, Florida.
- Gardener, P.S. and McQuillen, J. (1980)
Rapid virus diagnostics: Applications of immunofluorescence.
2nd edn. Butterworths, London.
- 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
- McClean, D.M. (1988)
Virological infections.
Thomas Springfield, Illinois.
- McClean, D.M., Bannatyre, R.M. and Givan, K.F. (1967)
Myxovirus dissemination by air.
Canadian Medical Association Journal 89: 1257-59
- 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
- McClean, D.M. (1991)
Parainfluenza viruses.
Zuckerman, A.J., Banatvala, J.E., Pattison, J.R. eds.
Principle and Practice of Clinical Virology



X7849 Αναθεωρημένο Φεβρουάριος 2013



K610411-2,

50 tests

K610311-2

50 tests



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Ηνωμένο Βασίλειο

Για όλα τα ερωτήματά σας, παρακαλούμε επικοινωνήστε με την τοπική το διανομέα