

IMAGEN

PARAINFLUENZA VIRUS

TYPES 1, 2 AND 3

REF	K610311-2 K610411-2	 50  50	PL
------------	------------------------	--	-----------

Bezpośredni test immunofluorescencyjny do wykrywania wirusa paragrypy Parainfluenza 1, 2 i 3.

1. PRZEZNACZENIE

Testy na obecność wirusów IMAGEN™ Parainfluenza są jakościowymi testami immunofluorescencji bezpośredniej, służącymi do wykrywania i różnicowania wirusów paragrypy typu 1, 2 i 3 bezpośrednio w w wydzielinie z nosogardzieli lub hodowlach komórek. Zestawy odczynnikowe są dostępne w dwóch odmianach:

IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) (Nr kat. K6103) do wykrywania i potwierdzania obecności antygenów wirusów paragrypy bezpośrednio w w wydzielinie z nosogardzieli lub hodowlach komórek.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3 (Nr kat. K6104) do wykrywania i różnicowania antygenów wirusów paragrypy odpowiednio typu 1, 2 lub 3, bezpośrednio w wydzielinie z nosogardzieli lub hodowlach komórek.

Negatywny wynik uzyskany po bezpośrednim badaniu wydzieliny z nosogardzieli powinien być uznany za wstępny, dopóki nie zostanie potwierdzony badaniem hodowli komórek.

2. STRESZCZENIE

Wirusy paragrypy (Parainfluenza) należą do rodzaju Paramyxovirus wyodrębnionego w ramach rodziny Paramyxoviridae¹. Istnieje 6 gatunków Paramyxovirus zdolnych do zakażenia człowieka, w tym wirusy Parainfluenza typu 1, 2, 3 i 4 (podtypy 4a i 4b), wirus świnki i wirus choroby z Newcastle. Z czterech podtypów wirusa Parainfluenza, typy 1, 2 i 3 są uznawane za podstawową przyczynę ostrych chorób układu oddechowego u niemowląt i dzieci.^{2,3}

Wirusy paragrypy rozprzestrzeniają się przez bezpośredni kontakt lub wdychanie kropelek zawierających wirusy, a rozpylanych z układu oddechowego osób z objawami infekcji. Wydzielina z nosa może zawierać wysokie stężenie wirusów. Wirus namnaża się w nabłonku rzęskowym górnych i dolnych dróg oddechowych, powodując martwicę i złuszczenie komórek. Zakażenie wirusem zachodzi na dzień przed i do 7 dni po pojawieniu się objawów. Może ono przetrwać u osób z obniżoną odpornością.^{4,5}

Wirusy paragrypy typu 1, 2 i 3 mogą zakażać i powodować chorobę w całych (górnych i dolnych) drogach oddechowych. Większość zakażeń wirusami paragrypy objawia się klinicznie jako ostre zapalenia gardła, tchawicy i oskrzeli (laryngotracheobronchitis, krup u niemowląt i dzieci). Jednak zakażenia wirusami Parainfluenza mogą też powodować tracheobronchitis, bronchitis, zapalenia płuc i cały szereg objawów związanych z zapaleniem górnych dróg oddechowych.

Czasami zakażenia wirusami Parainfluenza mogą być poważne u niemowląt, powodując obstrukcję dróg oddechowych i zaburzenia oddychania, co może prowadzić do wzrostu zachorowalności i śmiertelności u chorych na przykład na mukowiscydozę lub u

chorych z obniżoną odpornością.

Wirusy paragrypy kojarzy się z nagłymi zachorowaniami na ostre zapalenie dróg oddechowych w oddziałach pediatrycznych i geriatrycznych, co przedłuża hospitalizację i powoduje zwiększoną zachorowalność i śmiertelność.⁶ Szybka diagnoza jest ważna ze względu na opiekę nad chorymi i zapobieganie epidemiom.

Obecnie podstawową metodą diagnostyczną używaną do diagnozowania zakażeń wirusami Parainfluenza jest albo izolacja i identyfikacja wirusa w hodowli komórkowej, albo bezpośrednie jego wykrycie w w próbkach klinicznych.

Powyzolowaniu wirusa w hodowli komórkowej, aby go ostatecznie zidentyfikować, trzeba wykonać dodatkowe testowanie, test neutralizacji, zahamowania hemaglutynacji lub badanie mikroskopią elektronową. Badania te są praco- i czasochłonne, a ponadto wymagają doświadczenia laboratoryjnego, co nie w każdym laboratorium może być dostępne.

Ostatnio opisano test immunofluorescencyjny, z wykorzystaniem poli- lub monoklonalnych przeciwciał do identyfikacji i potwierdzenia obecności wirusów Parainfluenza w jednowarstwowych hodowlach komórkowych lub bezpośrednio w próbkach biologicznych^{7,8,9}. Bezpośrednie testy immunofluorescencyjne wykorzystujące przeciwciała monoklonalne znakowane fluoresceiną stanowią szybszą i swoistą metodę wykrywania wirusów w próbkach klinicznych lub hodowlach komórkowych.

Zestawy IMAGEN Parainfluenza virus są bezpośrednimi testami immunofluorescencyjnymi do wykrywania i identyfikacji wirusów paragrypy typu 1, 2 i 3 bezpośrednio w wydzielinie z nosogardzieli lub w hodowlach komórkowych. Testy wykorzystują swoiste dla typu wirusa Parainfluenza 1, 2 lub 3 przeciwciała monoklonalne.

3. ZASADA TESTU

Zestawy IMAGEN™ Parainfluenza virus test zawierają przeciwciała monokonalne znakowane izotiocjanianem fluoresceiny (FITC), które wiążą się swoiście do danego typu wirusa paragrypy 1, 2 lub 3. Przeciwciała te są podstawą metody immunofluorescencji bezpośredniej. Próbkki inkubuje się z odczynnikiem znakowanym FITC przez 15 minut. Nadmiar odczynnika jest następnie usuwany przez spłukanie roztworem chlorku sodowego buforowanego fosforanem (PBS). Wybarwione preparaty ogląda się pod mikroskopem fluorescencyjnym, umożliwiającym naświetlanie epi. Jeśli w preparacie obecne są wirusy Parainfluenza typu 1, 2 lub 3, w zakażonych komórkach pojawia się fluorescencja w kolorze zielonego jabłka, kontrastująca z zabarwionymi na czerwono niezakażonymi komórkami.

Podziękowanie

Przeciwciała monoklonalne wykorzystane w teście powstały w Department of Respiratory and Enteric Viruses, Public Health Services, Centre for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.

4. DEFINICJE

Poniższe symbole zostały użyte w informacji o produkcie.

	Kod produktu i numer katalogowy
	Proszę sprawdzić instrukcję użycia
	Zawartość wystarcza na <N> testów
	Wytworzone przez

	Do diagnostyki medycznej <i>In vitro</i>
	Użyć przed
	Numer serii
	Ograniczenia temperatury przechowywania

5. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

 50 - Każdy zestaw zawiera dostateczną ilość materiału na zbadanie 50 preparatów hodowli tkankowej.

 - Czas przydatności zestawu do użycia jest wskazany na etykiecie zewnętrznego pudełka.

5.1. IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS ODCZYNNIKI DOSTARCZONE



POSITIVE CONTROL SLIDE

instrukcję użycia

Dodatnia kontrola: 2 x 3 skrawki tkankowe, zawierające utrwalone acetonem komórki nerki afrykańskiej małpy zielonej (Veros) zakażone wirusem Parainfluenza typu 1, 2 lub 3 (szczep odpowiednio CDC V6-004, CDC V7-003 lub CDC V5-003).

3mL płynu do przyklejania preparatów. Płyn zawiera inhibitor gaśnięcia w roztworze glicerolu (pH 10,0).

Jedna butelka każdego z wymienionych:

ODCZYNNIKI GRUPOWE IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS – K6103

REAGENT G

1.4mL odczynnika IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 i 3. Odczynnik składa się z mieszaniny 3 oczyszczonych mysich przeciwciał monoklonalnych przeciwko wirusowi paragrypy typu 1, 2 i 3, sprężonych z FITC, rozcieńczonych w stabilizowanym roztworze białka w buforowanym fosforanem roztworze soli fizjologicznej, zawierającym błękit Evansa jako barwnik. Przeciwciała są skierowane odpowiednio przeciwko białku F wirusa paragrypy typu 1, hemaglutyninie wirusa paragrypy typu 2 i hemaglutyninie wirusa paragrypy typu 3.

LUB

ODCZYNNIKI SWOISTE DLA TYPU IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 AND 3– K6104

REAGENT 1

1.4mL odczynnika IMAGEN Parainfluenza virus 1. Odczynnik składa się z oczyszczonego msysiego przeciwciała monoklonalnego przeciwko wirusowi paragrypy typu 1 (skierowanego przeciwko białku F wirusa paragrypy typu 1), sprężonego z FITC, rozcieńczonego w stabilizowanym roztworze białka w buforowanym fosforanem roztworze soli fizjologicznej, zawierającym błękit Evansa jako barwnik.

1.4mL odczynnika IMAGEN Parainfluenza virus 2. Odczynnik składa się z oczyszczonego msysiego przeciwciała monoklonalnego przeciwko wirusowi paragrypy typu 2

REAGENT 2

(skierowanego przeciwko hemaglutyninie wirusa paragrypy typu 2), sprężonego z FITC, rozcieńczonego w stabilizowanym roztworze białka w buforowanym fosforanem roztworze soli fizjologicznej, zawierającym błękit Evansa jako barwnik.

REAGENT 3

1.4mL odczynnika IMAGEN Parainfluenza virus 3. Odczynnik składa się z oczyszczonego msysiego przeciwciała monoklonalnego przeciwko wirusowi paragrypy typu 3 (skierowanego przeciwko hemaglutyninie wirusa paragrypy typu 3), sprężonego z FITC, rozcieńczonego w stabilizowanym roztworze białka w buforowanym fosforanem roztworze soli fizjologicznej, zawierającym błękit Evansa jako barwnik.

5.2. PRZYGOTOWANIE, PRZECZYSZCZANIE I POWTÓRNE UŻYCIE SKŁADNIKÓW ZESTAWU

Aby uzyskać jak najlepsze wyniki, należy przechowywać Niezużyte składniki zestawu zgodnie z poniższą instrukcją:

5.3. PREPARATY KONTROLI DODATNIEJ - POSITIVE CONTROL SLIDE

Preparaty kontroli dodatniej są dostarczane pakowane pojedynczo w szczelne torebki foliowe napełniane azotem. Niezużyte preparaty należy przechowywać w temp. 2-8°C. Przed otwarciem torebki preparat należy pozostawić przez 5 minut w temp. pokojowej (15-30°C).

Barwić preparat natychmiast po otwarciu.

5.4. PŁYN DO PRZYKLEJANIA PREPARATÓW - MOUNTING FLUID

Gotowy do użycia. Niezużyty przechowywać w temperaturze 2-8°C. Przed użyciem pozostawić na 5 minut w temp. pokojowej (15-30°C).

5.5. ODCZYNNIKI GRUPOWE LUB SWOISTE DLA TYPU 1, 2 I 3 - REAGENT G/REAGENT 1/REAGENT 2/REAGENT 3

Gotowe do użycia. Niezużyte przechowywać w ciemności w temperaturze 2-8°C. Przed użyciem pozostawić na 5 minut w temp. pokojowej (15-30°C).

6. DODATKOWE WYMAGANE ODCZYNNIKI I SPRZĘT

6.1. ODCZYNNIKI

Świeży aceton (do utrwalania).

Sól fizjologiczna buforowana fosforanem (PBS) pH 7,5 do spłukiwania barwionych preparatów i do przygotowania próbek.

6.2. AKCESORIA

Następujące produkty są przewidziane do użycia w połączeniu z K6103 i K6104. W sprawie dalszych informacji proszę skontaktować się z miejscowym dystrybutorem.

Pokryte teflonem szkiełka mikroskopowe z polami o średnicy 6mm (100 szkiełek w opakowaniu) dostępne u miejscowego dystrybutora (nr kat. S6114).

Preparaty kontroli doatniej (nr kat. S6111).

7. WYPOSAŻENIE

Wymagane jest następujące wyposażenie:

Mikropipety i końcówki jednorazowe do podawania objętości 25µL.

Naczynie do płukania.

Szkiełka nakrywkowe pasujące na pola o średnicy 6mm .

Nie-fluoryzujący olejek immersyjny.

Mikroskop epifluorescencyjny z systemem filtrów do FITC (maksymalna fala wzbudzenia 490nm, średnia fala emisji 520nm) i powiększeniem x200 x500.

Inkubator na 37°C.

Wirówka o niskich obrotach.

Do próbek bezpośrednich
Ekstraktor śluzu.

Do potwierdzenia w hodowli komórkowej

Sterylnie pałeczki wymazowe, wirusowe medium transportowe (VTM) i pojemnik nadający się do pobierania, transportowania i hodowli wirusów paragrypy. W sprawie informacji co do użycia odpowiedniego medium VTM proszę zapoznać się z punktem 13 sekcji 13 (dostępne od miejscowego przedstawiciela Oxoid).

Linie komórkowe zalecane do hodowli i izolacji wirusów paragrypy.

Preparaty kontroli negatywnej, przygotowane z niezakażonych, nieuszkodzonych komórek tego samego typu, co użyte do hodowli i izolacji wirusów paragrypy. Komórki powinny być przygotowane i utrwalone zgodnie z opisem w sekcji 9.1 I wybarwione zgodnie z opisem w sekcji 10.

8. ZASTRZEŻENIA

IVD - Do diagnostyki *in vitro*. Osoba wykonująca badanie musi być przeszkolona i doświadczona w procedurach laboratoryjnych.

8.1. ŚRODKI BEZPIECZEŃSTWA

8.1.1 Odczynniki testu IMAGEN Parainfluenza virus zawierają <0.1% azydku sodowego, który jest trujący. Azydek sodowy może reagować z miedzianymi i ołowianymi częściami kanalizacji, tworząc wybuchowe azydki metali. Materiały zawierające azydek należy usuwać, splukując dużą ilością wody.

8.1.2 Wirus paragrypy na preparacie kontrolnym nie jest zakaźny, co wykazano w hodowli komórkowej. Jednak preparaty należy traktować i usuwać tak, jakby były zakaźne.

8.1.3 Odczynnik zawiera barwnik w postaci błękitu Evansa. Stężenie barwnika jest na tyle niskie, że produktu nie klasyfikuje się jako środka rakotwórczego. Należy jednak unikać kontaktu ze skórą.

8.1.4 Podczas stosowania preparatu Mounting Fluid należy zachować szczególną ostrożność, gdyż zawiera on substancje podrażniające skórę. Stężenie substancji drażniącej jest na tyle niskie, że produktu nie klasyfikuje się jako środka drażniącego. Jeśli jednak doszło do jego kontaktu ze skórą, należy przemyć dane miejsce wodą.

8.1.5 Nie jeść, nie pić, nie palić, nie przechowywać ani nie przygotowywać żywności, ani nie stosować kosmetyków w miejscu przeznaczonym do pracy z odczynnikami i próbkami.

8.1.6 Nie pipetować ustami.

8.1.7 Nosić jednorazowe rękawiczki podczas pracy z materiałem klinicznym i zakażonymi komórkami, zawsze myć ręce po pracy z materiałem zakaźnym.

8.1.8 Usuwać wszelkie pozostałości próbek klinicznych zgodnie z miejscowymi przepisami.

8.1.9 Arkusz dotyczący bezpieczeństwa dostępny na żądanie dla osób zawodowo przygotowanych.

8.2. UWAGI TECHNICZNE

8.2.1 Nie należy używać składników zestawu po upływie daty ważności podanej na etykietach. Nie mieszać ani nie zamieniać odczynników z różnych zestawów i serii.

8.2.2 Odczynniki są dostarczane w ustalonych stężeniach roboczych. Wynik testu może nie być wiarygodny, jeśli są one mieszane, rozcieńczane lub przechowywane w warunkach innych niż wskazane w sekcji 5.

8.2.3 Odczynniki do typowania nie powinny być zlewane lub używane razem na jednym polu preparatu, bo może to pogorszyć wyniki testu.

8.2.4 Przygotowywać świeży roztwór soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS) na codzienne zużycie.

8.2.5 Płukanie PBS jest konieczne. Użycie innych roztworów płuczających, jak woda wodociągowa lub destylowana pogorszy wyniki testu.

8.2.6 Unikać mikrobiologicznego zanieczyszczenia odczynników.

8.2.7 Odczynników nie wolno zamrażać.

9. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Pobieranie i przygotowanie próbek ma fundamentalne znaczenie w diagnostyce wirusa paragrypy metodą hodowli komórek. Próbki muszą być pobrane z miejsca zakażenia w okresie maksymalnego uwalniania wirusa, aby zawierały możliwie dużo materiału zakażnego. Zalecaną próbką z układu oddechowego jest materiał odessany z nosogardzieli (nasopharyngeal aspirate, NPA), który powinien dostarczyć dużych ilości komórek nabłonka.

9.1. PRÓBKİ KLINICZNE

9.1.1 Materiał odessany z nosogardzieli/ wydzielina z nosogardzieli

Pobieranie

Pobrać próbkę z nosogardzieli do ekstraktora śluzu przez wężyk o rozmiarze 8. Ekstraktor śluzu i wężyk powinny być przechowywane w temp. 2-8°C i wysłane do laboratorium najszybciej jak to możliwe.

Rozdzielenie komórek

Jeśli to konieczne, należy dodać 2mL roztworu soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS) do próbki przed wirowaniem, aby zmniejszyć lepkość i rozcieńczyć śluz. Odwirować ekstraktor śluzu w temp. pokojowej (15-30°C) przez 10 minut przy 380g. Usunąć nasącz, którego można użyć do hodowli komórek. Zawiesić osad komórek w 2mL PBS i delikatnie zamieszać, kilkakrotnie przeciągając przez końcówkę pipety z szerokim wlotem lub na mieszkadle, aż śluz się rozredzi, a materiał komórkowy zostanie uwolniony. Należy unikać gwałtownego mieszania i pipetowania, aby zapobiec uszkodzeniu komórek. Kiedy uzyska się gładką zawiesinę komórek, należy w miarę potrzeby dodać więcej PBS, mieszając po każdym dodaniu, aby przepłukać komórki. Na tym etapie należy usunąć wszystkie widoczne jeszcze pasma śluzu. Nadmiar śluzu musi zostać usunięty, ponieważ zapobiega on właściwej penetracji odczynnika i może powodować nieswoistą fluorescencję.

Jeśli cała wydzielina pozostała w wężyku i nie znalazła się w ekstraktorze śluzu, należy ją wypłukać z wężyka do PBS. Najłatwiej to zrobić, wkładając pipetę pasterowską w ten koniec wężyka, który dochodził do ekstraktora śluzu. Zawartość trzeba odessać do próbówki, a wężyk przepłukać, aby usunąć wydzielinę, która przylgnęła do ścian. Następnie zawiesinę należy przeciągnąć kilkakrotnie przez pipetę, aby rozrzedzić śluz.

Przygotowanie preparatów

Po zakończeniu procesu przygotowania próbek, odwirować powstałą zawiesinę komórek w temp. pokojowej (15-30°C) przez 10 minut przy 380g i odrzucić nadsącz. Zawiesić osad komórek w ilości PBS dostatecznej, aby rozpuścić pozostały śluz, a jednocześnie zachować dużą gęstość komórek. Umieścić 25µL zawiesiny komórek w polu o średnicy 6mm na preparacie.

Jedno pole testowe jest potrzebne dla testu grupowego IMAGEN™ Parainfluenza virus Group (nr kat. K6103). Trzy takie pola są wymagane dla testu IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 i 3 (nr kat. K6104).

Preparat powinien wyschnąć na powietrzu w temp. pokojowej (15-30°C), następnie należy go utrwalić świeżym acetonem w temp. pokojowej (15-30°C) przez 10 minut. Jeśli próbki nie barwi się natychmiast, należy ją przechować w temp. -70°C do czasu barwienia. Tak przechowywane preparaty powinny zostać wybarwione w ciągu dwóch tygodni od przygotowania, ponieważ po tym czasie ich jakość spada.

9.2. HODOWLA KOMÓREK I TYPOWANIE

Zakażanie hodowli komórkowych

Próbki pobrane do diagnostyki wirusa paragrypy powinny zostać użyte do zakażenia linii komórkowych rutynowo hodowanych w laboratorium, zgodnie z ustalonymi procedurami. Hodowle należy kontrolować pod kątem pojawiania się efektu cytopatycznego (cytopathic effect, CPE) i w regularnych odstępach czasu przeprowadzać test hemadsorbcji. Hodowle dodatnie w teście hemadsorbcji lub wykazujące efekt cytopatyczny mogą zostać zebrane i przebadane w kierunku obecności wirusa paragrypy.

Przygotowanie preparatów

Zeskrobać warstwę komórek do medium, używając jałowej pipety. Odwirować komórki przy 200g przez 10 minut w temp. pokojowej (15-30°C) i usunąć nadsącz.

Przemyć komórki zawieszając osad w PBS i powtórzyć wirowanie. Usunąć nasącz i zawiesić osad w małej (75-100µL na próbówkę) objętości świeżego PBS, aby utrzymać wysoką gęstość komórek.

Umieścić 25µL porcje zawiesiny komórek w indywidualnych polach testowych na preparacie.

Jedno pole testowe jest potrzebne dla testu grupowego IMAGEN Parainfluenza virus Group (nr kat. K6103).

Trzy takie pola są wymagane dla testu IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 i 3 (nr kat. K6104).

Preparat powinien wyschnąć na powietrzu w temp. pokojowej (15-30°C), następnie należy go utrwalić świeżym acetonem w temp. pokojowej (15-30°C) przez 10 minut. Jeśli próbki nie barwi się natychmiast, należy ją przechować w temp. 4°C przez noc lub zamrozić w -20°C przy dłuższym przechowywaniu. Tak przechowywane preparaty powinny zostać wybarwione w ciągu dwóch tygodni od przygotowania, ponieważ po tym czasie ich jakość spada.

10. WYKONANIE TESTU

PROSZĘ ZAPOZNAĆ SIĘ Z ZASTRZEŻENIAMİ TECHNICZNYMI W SEKCJI 8.2 PRZED WYKONANIEM TESTU.

Dla testu grupowego IMAGEN Parainfluenza virus Group (nr kat. K6103) proszę zapoznać się z procedurą wykonania w sekcji 10.1, a dla testu do typowania IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 i 3 (nr kat. K6104) z procedurą wykonania w sekcji 10.2.

10.1. TEST GRUPOWY IMAGEN PARAINFLUENZA VIRUS GROUP - K6103

10.1.1 Dodawanie odczynnika

Dodać 25µL odczynnika G do utrwalonego preparatu komórek (patrz sekcja 9.1), preparatu kontroli dodatniej i preparatu kontroli ujemnej. Odczynnik powinien pokryć cały obszar pola.

10.1.2 Pierwsza inkubacja

Inkubować preparaty z odczynnikiem w **komorze wilgotnej przez 15 minut w 37°C. Nie należy pozwolić**, aby odczynnik zasechł na preparacie, ponieważ spowoduje to pojawienie się nieswoistego barwienia.

10.1.3 Płukanie preparatu

Splukać nadmiar odczynnika PBS-em i delikatnie płukać preparat PBS-em w łaźni z wytrząsarką przez 5 minut. Osączyć nadmiar PBS i wysuszyć preparat na powietrzu w temp. pokojowej (15-30°C).

10.1.4 Dodawanie płynu do przyklejania preparatów

Dodać kroplę płynu do przyklejania preparatów na każde pole testowe i umieścić na każdym szkiełko nakrywkowe tak, aby pod szkiełkiem nie zostały bąbelki powietrza.

10.1.5 Odczyt preparatu

Obejrzyć cały obszar pola testowego, na którym znajduje się badana próbka pod mikroskopem epifluorescencyjnym. Fluorescencja, jak opisano w sekcji 11, powinna być widoczna przy powiększeniu x200 x500. (Żeby uzyskać jak najlepsze wyniki, powinno się oglądać preparaty zaraz po barwieniu, ale można je przechowywać w temp. 2-8°C, w ciemności, do 72 godzin).

10.2. TEST IMAGEN™ PARAINFLUENZA VIRUS TYPES 1, 2 I 3 – K6104

10.2.1 Dodawanie odczynnika

Dodać 25µL odczynnika 1 na pierwsze pole testowe, 25µL odczynnika 2 na drugie pole testowe i 25µL odczynnika 3 na trzecie pole testowe utrwalonego preparatu (patrz sekcja 9.1), na pole kontroli dodatniej i kontroli ujemnej. Odczynnik powinien pokryć cały obszar pola.

10.2.2 Pierwsza inkubacja

Inkubować preparaty z odczynnikami w **komorze wilgotnej przez 15 minut w 37°C. Nie należy pozwolić**, aby odczynnik zasechł na preparacie, ponieważ spowoduje to pojawienie się nieswoistego barwienia.

10.2.3 Płukanie preparatu

Splukać nadmiar odczynnika PBS-em i delikatnie płukać preparat PBS-em w łaźni z wytrząsarką przez 5 minut. Osączyć nadmiar PBS i wysuszyć preparat na powietrzu w temp. pokojowej (15-30°C).

10.2.4 Dodawanie płynu do przyklejania preparatów

Dodać kroplę płynu do przyklejania preparatów na każde pole testowe i umieścić na każdym szkiełko nakrywkowe tak, aby pod szkiełkiem nie zostały bąbelki powietrza.

10.2.5 Odczyt preparatu

Obejrzyć cały obszar pola testowego, na którym znajduje się badana próbka pod mikroskopem epifluorescencyjnym. Fluorescencja, jak opisano w sekcji 11, powinna być widoczna przy powiększeniu x200 x500. (Żeby uzyskać jak najlepsze wyniki, powinno się oglądać preparaty zaraz po barwieniu, ale można je przechowywać w temp. 2-8°C, w ciemności, do 72 godzin).

11. INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU

11.1. KONTROLE

11.1.1 Preparat kontroli dodatniej

Jeśli były barwione i oglądane tak, jak opisano w sekcji 10, preparaty kontroli dodatniej powinny uwidaczniać komórki z wewnątrzkomórkową, jądrową i/lub cytoplazmatyczną fluorescencją w kolorze zielonego jabłka, kontrastującą z tłem podbarwionym na czerwono. Preparatów kontroli dodatniej powinno się używać do sprawdzenia, czy barwienie zostało przeprowadzone prawidłowo.

Preparaty kontroli dodatniej zostały przygotowane ze szczepów wirusa paragrypy w jednowarstwowych hodowlach komórkowych i stanowią jedynie kontrolę wykonania samej procedury barwienia, a nie przygotowania próbek. Kontroli przygotowania próbek powinno się dokonywać z użyciem dodatniego materiału klinicznego.

11.1.2 Kontrola ujemna

Preparaty kontroli ujemnej należy wykonać z niezakażonych, nienaruszonych komórek, użytych do hodowli i izolacji wirusa paragrypy. Komórki te powinny zostać przygotowane i utrwalone zgodnie z opisem w sekcji 9.2 i wybarwione zgodnie z opisem w sekcji 10. Komórki na preparatach kontroli ujemnej powinny zabarwić się na czerwono błękitem Evansa, używanym jako barwnik kontrolny.

Preparaty przygotowane w ten sposób stanowią jedynie kontrolę wykonania samej procedury barwienia, a nie przygotowania próbek. Kontroli przygotowania próbek powinno się dokonywać z użyciem ujemnego materiału klinicznego.

11.2. PRÓBKİ KLINICZNE

11.2.1 Wygląd komórek zakażonych wirusem paragrypy

W komórkach nabłonka dróg oddechowych zakażonych wirusem paragrypy widoczna jest wewnątrzkomórkowa, jądrowa i/lub cytoplazmatyczna fluorescencja w kolorze zielonego jabłka. Niezakażone komórki są wybarwione kontrolnym błękitem Evansa na czerwono.

11.2.2 Interpretacja wyników

Można postawić rozpoznanie, gdy jedna lub więcej komórek w badanym, utrwalonym i wybarwionym materiale wykazuje swoistą fluorescencję opisaną w sekcji 11.2.1 z odczynnikiem grupowym IMAGEN Parainfluenza virus Group lub z jednym z pojedynczych odczynników do typowania IMAGEN Parainfluenza virus typu 1, 2 lub 3. Wyniki takie powinno się interpretować jako dodatnie w kierunku antygenów wirusa paragrypy.

Diagnoza jest ujemna, gdy utrwalone i wybarwione próbki nie wykazują fluorescencji ani z grupowym odczynnikiem IMAGEN Parainfluenza virus Group, ani z żadnym z pojedynczych odczynników IMAGEN™ Parainfluenza virus typu 1, 2 lub 3. Wyniki powinno się podać jako: próbki ujemne w badaniu w kierunku antygenów wirusa paragrypy, badanie hodowli komórkowej zostanie uzupełnione.

W badaniach bezpośrednio barwionych wydzielin z nosogardzieli należy ocenić co najmniej 20 niezakażonych komórek nabłonka dróg oddechowych, zanim postawi się ujemne rozpoznanie. Proszę zapoznać się z sekcją 11.2.3, jeśli w materiale nie ma dostatecznej liczby komórek.

11.2.3 Niedostateczna liczba komórek

Jeśli w preparacie nie ma dostatecznej liczby komórek, pozostałości próbki klinicznej należy odwirować przy 380g przez 10 minut w temp. pokojowej (15-30°C). Przed nałożeniem na pole testowe (25 µL) należy zawiesić uzyskany po wirowaniu osad w mniejszej objętości PBS. Można też zażądać powtórного pobrania próbki.

11.3. POTWIERDZENIE W HODOWLI KOMÓRKOWEJ I TYPOWANIE

11.3.1 Wygląd komórek zakażonych wirusem paragrypy

Zakażone komórki wykazują wewnątrzkomórkową, jądrową i/lub cytoplazmatyczną fluorescencję w kolorze zielonego jabłka, i powinny zostać odnotowane jako dodatnie w kierunku paragrypy.

Niezakażone komórki barwią się na czerwono kontrolnym błękitem Evansa i powinny zostać odnotowane jako ujemne w kierunku paragrypy.

11.3.2 Interpretacja wyników

Dodatnie rozpoznanie można postawić, gdy jedna lub więcej komórek w badanym, utrwalonym i wybarwionym materiale wykazuje swoistą fluorescencję opisaną w sekcji 11.3.1 z odczynnikiem grupowym IMAGEN Parainfluenza virus Group lub z jednym z pojedynczych odczynników IMAGEN Parainfluenza virus typu 1, 2 lub 3. Powinno się dokonać oceny co najmniej 50 niezakażonych komórek w każdym polu testowym, zanim postawi się ujemne rozpoznanie. Proszę zapoznać się z sekcją 11.2.3, jeśli w materiale nie ma dostatecznej liczby komórek.

11.3.3 Kontrola jakości

Dodatnie i ujemne kontrole powinny być barwione i oglądane za każdym razem, gdy wykonuje się badanie testem IMAGEN Parainfluenza w kierunku obecności wirusa paragrypy w zakażonych hodowlach komórkowych.

Dostarczone preparaty kontroli dodatniej służą jako odpowiednia kontrola do oceny prawidłowości barwienia i reaktywności odczynnika z komórkami zakażonymi wirusem paragrypy. Dodatkowe preparaty kontroli dodatniej są dostępne w Oxoid, (nr kat. S6111).

Odczynniki i sposób wykonania powinno się kontrolować także za pomocą preparatów kontroli ujemnej, czyli preparatów wykonanych z niezakażonych hodowli komórkowych tego samego rodzaju, co użyte do hodowli wirusa paragrypy.

Jeśli w preparacie próbki badanej lub kontroli ujemnej nie ma dostatecznej liczby komórek (jest mniej niż 50), należy odwirować pozostałość próbki z hodowli komórkowej przy 200g przez 10 minut w temp. pokojowej (15 30°C) i zawiesić powstały osad w mniejszej objętości (około 50µL) PBS. Potem należy umieścić 25µL zawiesiny komórek w każdym polu testowym i postępować dalej jak opisano w sekcjach 9 i 10.

Jeśli użyto zarówno odczynnika grupowego, jak i zestawu pojedynczych odczynników do typowania, i uzyskano wynik ujemny z odczynnikami do typowania, a dodatni z odczynnikiem grupowym, powinno się sporządzić dodatkowe preparaty i powtórzyć badanie. Można też dokonać pasażu hodowli komórkowej w celu zwiększenia ilości cząstek wirusa i liczby zakażonych komórek przed powtórzeniem badania immunofluorescencyjnego.

12. OGRANICZENIA TESTU

12.1. Używać tylko dostarczonego płynu do przyklejania preparatów.

12.2. Nieswoiste barwienie obserwuje się czasami w badaniach immunohistochemicznych jako artefakt wynikający z reakcji fragmentu Fc przeciwciał z białkiem A obecnym w ścianie komórkowej niektórych szczepów *Staphylococcus aureus*. Odczynniki IMAGEN Parainfluenza virus test zostały tak zmodyfikowane, aby zredukować wiązanie z białkiem A szczepu *Staphylococcus aureus* Cowan 1. Jednak przeciwciała użyte w odczynniku przeciwko typowi 1 wirusa Parainfluenza mogą wykazywać bardzo słabą reakcję krzyżową z białkiem A *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* może być obecny w próbkach klinicznych i dodany wraz z nimi do hodowli, gdzie jednak jego namnażanie powinno zostać zahamowane przez użycie antybiotyków. *Staphylococcus aureus* pojawia się nieodmiennie jako tetrady lub podobne do gron skupiska ziarniaków (każdy o średnicy około 1µM) i może wykazywać raczej świecenie zewnątrzkomórkowe, a nie charakterystyczne wewnątrzkomórkowe, drobnoziarniste, widoczne w w hodowlach komórek zakażonych wirusem paragrypy.

12.3. Typ i stan oprzyrządowania użytego do oceny preparatów wpływa na uzyskiwany obraz. Przy reakcjach typu punktu końcowego efekt zależy od rodzaju mikroskopu, źródła światła, wieku żarówki, zestawu filtrów i ich grubości, wykrywalności antygenów substratu i zastosowanej procedury. Każde laboratorium powinno ustalić swoje własne kryteria odczytu reakcji punktu końcowego, z zastosowaniem odpowiednich kontroli.

12.4. Niepowodzenie wykrycia wirusa paragrypy w hodowli komórek może być wynikiem działania takich czynników, jak nieprawidłowe pobranie próbki klinicznej, nieprawidłowe dodawanie i/lub przechowywanie, nieudana hodowla komórek itd. Ujemny wynik nie wyklucza zatem możliwości zakażenia wirusem paragrypy.

12.5. Zarówno odczynnik grupowy, jak i odczynniki do typowania IMAGEN™ Parainfluenza reagują z antygenami wirusowymi, obecnymi w zakażonych komórkach. Dodatni wynik nie jest jednak wskaźnikiem żywotności stwierdzonego wirusa paragrypy.

12.6. Przeciwciała monoklonalne zastosowane w odczynnikach grupowym i do typowania IMAGEN Parainfluenza zostały opracowane na podstawie reakcji z wzorcowymi szczepami wirusa Parainfluenza. Przeciwciała te mogą nie wykrywać wszystkich wariantów antygenowych lub nowych szczepów wirusa paragrypy.

12.7. Zmienność antygenowa w epitopach, przeciwko którym są skierowane przeciwciała monoklonalne, zawarte w odczynnikach grupowym i do typowania IMAGEN Parainfluenza, może powodować powstawanie nowych wariantów antygenowych, których te przeciwciała nie będą już rozpoznawały.

12.8. Powszechność typu wirusa obecnego w próbce będzie miała wpływ na wartość predykcijną badania.

12.9. Jakość obrazu fluorescencyjnego może być różna, zależnie od użytego rodzaju mikroskopu i źródła światła.

12.10. Zaleca się użycie 25µL odczynnika do pokrywania pola reakcyjnego o średnicy 6mm. Zmniejszenie tej objętości

może powodować trudności z pokryciem całego obszaru próbki i może zmniejszyć czułość.

12.11. Wszystkie odczynniki są dostarczane w ustalonych stężeniach roboczych. Jakość testu może ulec pogorszeniu, jeśli te odczynniki są modyfikowane w jakkolwiek sposób lub przechowywane w warunkach innych niż zalecane.

12.12. Wszystkie wyniki dodatnie muszą być poddane interpretacji w odniesieniu do całej dostępnej informacji epidemiologicznej, oceny klinicznej i innych badań diagnostycznych.

13. SPODZIEWANE WARTOŚCI

Stopień wykrywalności wirusa paragrypy może się różnić, zależnie od rodzaju użytego testu, metody, czasu i miejsca pobrania próbki, obchodzenia się z nią, przechowywania i transportowania. Zależy także od współczynnika częstości występowania wirusa w danej populacji, a także od wieku, położenia geograficznego i socjo-ekonomicznego statusu badanej populacji.

Wirusy paragrypy typów 1, 2 i 3 występują często na całym świecie i są związane z zakażeniami układu oddechowego w umiarkowanym, tropikalnym i arktycznym klimacie¹⁰. Większość zakażeń dotyczy dzieci poniżej 5 lat, u których wirus paragrypy są odpowiedzialne za 20% zakażeń układu oddechowego i 30 40% przypadków krup^{11,12}.

Ponad 90% niemowląt przechodzi pierwotne zakażenie wirusami paragrypy, a aż 50% może przechodzić ponowne objawowe zakażenia².

Wirusy paragrypy występują z dużą częstością podczas sezonowych epidemii zakażeń układu oddechowego. W strefach umiarkowanych są one najczęściej skojarzone z epidemiami w miesiącach jesiennych i zimowych^{13,14}. W niektórych krajach epidemie zakażeń wirusem paragrypy typu 3 mogą się także pojawiać w miesiącach wiosennych i letnich³.

Najwyższą zachorowalność notuje się u dzieci w wieku pomiędzy pierwszym a piątym rokiem życia. Zakażenia u starszych dzieci i u dorosłych wiążą się zwykle z łagodniejszymi objawami.

Wirusy paragrypy są zwykle przyczyną epidemii zakażeń szpitalnych, zwłaszcza na oddziałach pediatrycznych, i w instytucjach opiekuńczych dla osób starszych, i tam wywołują zwiększoną zachorowalność i śmiertelność⁶.

Podczas zimy 1994-1995 ogólna częstość występowania wirusa paragrypy w jednym ośrodku testowym, w oparciu o wyniki izolacji wirusa wynosiła 12,5% (21/168) dla typu1; 1,8% (3/168) dla typu 2 i 14,3% (24/168) dla wirusa paragrypy typu 3. Dane te nie są reprezentatywne dla częstości występowania typów wirusa w całej populacji, ponieważ próbki pochodziły tylko od osób, które zachorowały na zapalenia dróg oddechowych.

14. SZCZEGÓŁOWA CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

14.1. BADANIA KLINICZNE

14.1.1 Próbkı bezpośrednie

Testy IMAGEN Parainfluenza virus grupowy i do typowania były oceniane w badaniach wydzielin z nosogardzieli w trzech ośrodkach, jednym w USA i dwóch w UK. Próbki pobierano podczas zimy 1994-1995.

Badania kliniczne przeprowadzono, używając aspiratów z nosogardzieli od chorych z podejrzeniem wirusowego zakażenia dróg oddechowych. Próbki były pobierane i poddane obróbce zgodnie z opisem w sekcji 9.1.1. Utrwalone acetonem preparaty

badano albo na świeżo (przechowane w 2-8°C i badane w ciągu 3 dni) lub zamrażano i badano później. Metodami standardowymi (odniesienia) były dostępny w handlu pośredni test immunofluorescencyjny oraz izolacja i identyfikacja wirusa.

Próbkę uznawano za dodatnią, jeśli w teście grupowym albo w teście do typowania IMAGEN Parainfluenza virus jedna lub kilka komórek nabłonka dróg oddechowych wykazywało typowy wzór fluorescencji, opisany w sekcji 11.2.1.

14.1.2 Potwierdzenie w hodowli komórkowej

Testy IMAGEN Parainfluenza virus grupowy i do typowania były poddane badaniom klinicznym w czterech ośrodkach w UK. Badania kliniczne podjęto od lipca do października 1991. W tym czasie odnotowano w jednym z ośrodków występowanie wirusa na poziomie 14,4% (15/104) dla typu 1 i 8,7% (9/104) dla wirusa paragrypy typu 3. Dane te nie są reprezentatywne dla częstości występowania typów wirusa w całej populacji, ponieważ próbki pochodziły tylko od osób, które zachorowały na zakażenie dróg oddechowych. Badania przeprowadzono na próbkach przygotowanych z jednowarstwowych hodowli komórkowych, zakażonych materiałem klinicznym pobranym od chorych z podejrzeniem zakażenia wirusem paragrypy. Standardowymi metodami identyfikacji wirusa paragrypy w hodowlach komórkowych były testy neutralizacji lub pośrednia immunofluorescencja. Odczynniki testu IMAGEN Parainfluenza virus były także badane pod kątem krzyżowej reaktywności z szerokim zakresem mikroorganizmów, których obecność w rutynowych próbkach klinicznych jest prawdopodobna (patrz sekcja 14.3).

14.2. WYNIKI KLINICZNE

14.2.1 Próbkı bezpośrednie

Testami grupowym i do typowania IMAGEN Parainfluenza virus przebadano łącznie 222 próbki od chorych z podejrzeniem wirusowego zapalenia dróg oddechowych. W ośrodku badawczym w pn-wschodnich Stanach Zjednoczonych przebadano w czasie zimy 1994-1995 184 próbki pediatriczne pod kątem czułości i swoistości testu. Większość była porównywana z izolacją wirusa, mniejszą część badano w porównaniu z pośrednim testem immunofluorescencyjnym, który stanowił test odniesienia. Tabele 14.1 i 14.2 zawierają wyniki z ośrodku w USA. W dwóch ośrodkach w UK zbadano próbki o potwierdzonej zawartości wirusa paragrypy, aby zwiększyć odsetek prób dodatnich. Wyniki tych badań zamieszczono w Tabelach 14.3 i 14.4. Wyniki pokazujące odsetki prób dodatnich we wszystkich ośrodkach dokonujących badań przedstawiono w Tabelach 14.5 i 14.6.

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

W ośrodku w USA test grupowy IMAGEN Parainfluenza virus Group (Typy 1, 2 i 3) wykazał 97,6% korelacji w stosunku do izolacji wirusa i 98,4% korelacji w porównaniu z referencyjnym pośrednim testem immunofluorescencyjnym. Względna czułość i swoistość testu grupowego IMAGEN Parainfluenza virus Group (Typy 1, 2 i 3) wynosiły odpowiednio 97,9% i 97,5% w porównaniu z izolacją wirusa. W porównaniu z immunofluorescencyjnym testem odniesienia, względna czułość i swoistość wynosiły odpowiednio 96,2% i 99,0%.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 1

W ośrodku w USA test IMAGEN Parainfluenza virus Type 1 wykazał korelację, czułość i swoistość o wartości 100% w porównaniu do izolacji wirusa i do immunofluorescencyjnego testu odniesienia.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 2

W ośrodku w USA test IMAGEN Parainfluenza virus Type 2 wykazał korelację, czułość i swoistość o wartości 100% w porównaniu do izolacji wirusa i do immunofluorescencyjnego testu odniesienia.

IMAGEN Parainfluenza virus Type 3

W ośrodku w USA test IMAGEN Parainfluenza virus Type 3 wykazał 97,6% korelacji, 91,6% czułości i 98,6% swoistości w porównaniu do izolacji wirusa. W porównaniu z immunofluorescencyjnym testem odniesienia korelacja, czułość i swoistość wyniosły odpowiednio: 98,4%, 75% and 99,1%.

Tabela 14.1 Porównanie wyników testu IMAGEN Parainfluenza virus z izolacją wirusa z aspiratów nosogardłowych w U.S. Centre

Test IMAGEN Parainfluenza virus				
IMAGEN Parainfluenza virus reagent	Liczba próbek badanych	Liczba próbek dodatnich po izolacji wirusa	Czułość	Swoistość
Parainfluenza 1 (95% zakres ufności)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Parainfluenza 2 (95% zakres ufności)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Parainfluenza 3 (95% zakres ufności)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)
Parainfluenza Group (95% zakres ufności)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)

Tabela 14.2 Porównanie wyników testu IMAGEN Parainfluenza virus z referencyjnym testem immunofluorescencyjnym w aspiratach nosogardłowych w U.S. Centre

Test IMAGEN Parainfluenza virus				
IMAGEN Parainfluenza virus reagent	Liczba próbek badanych	Liczba próbek dodatnich po izolacji wirusa	Czułość	Swoistość
Parainfluenza 1 (95% zakres ufności)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Parainfluenza 2 (95% zakres ufności)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Parainfluenza 3 (95% zakres ufności)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Parainfluenza Group (95% zakres ufności)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Uwaga: Proszę zauważyć, że słowo “względny” odnosi się do porównania wyników tego testu z wynikami podobnego testu. Nie dokonano tu ustalenia korelacji między wynikami testu z obecnością lub brakiem choroby. Na podstawie porówniania dokładności testów nie można wnioskować o ich zdolności do potwierdzenia choroby.

Tabela 14.3 Porównanie wyników testu IMAGEN Parainfluenza z izolacją wirusa z aspiratów nosogardłowych w dwóch Centrach w UK

Viral isolation		Pos		Neg	
IMAGEN reagent		Pos	Neg	Pos	Neg
Parainfluenza 1	n = 35	3	31	0	1**
Parainfluenza 2	n = 35	2	32	1*	0
Parainfluenza 3	n = 35	27	7	1*	0
Parainfluenza Group	n = 35	30	0	4***	1**

* Obie próbki ujemne także w referencyjnym teście immunofluorescencyjnym.
** Próbką dodatnią również w referencyjnym teście immunofluorescencyjnym.
*** Dwie z tych próbek ujemne także w referencyjnym teście immunofluorescencyjnym.

Tabela 14.4 Porównanie wyników testu IMAGEN Parainfluenza z referencyjnym testem immunofluorescencyjnym na aspiratach nosogardłowych w dwóch Centrach w UK

Reference immunofluorescence		Pos		Neg	
IMAGEN reagent		Pos	Neg	Pos	Neg
Parainfluenza 1	n = 38	3	35	0	0
Parainfluenza 2	n = 38	3	35	0	0
Parainfluenza 3	n = 38	30	8	0	0
Parainfluenza Group	n = 38	34	2	2*	0

* Jedna próbka zawierała niewiele komórek.

Tabela 14.5 Porównanie odsetka dodatnich wyników testu IMAGEN Parainfluenza z izolacją wirusa z aspiratów nosogardłowych ze wszystkich centrów badań

IMAGEN reagent	Liczba wykryta przez izolację wirusa	Liczba wykryta przez IMAGEN	% zgodności
Parainfluenza 1	24	24	100%
Parainfluenza 2	6	5	83,3%
Parainfluenza 3	52	49	94,2%
Parainfluenza Group	82	77	93,9%

Tabela 14.6 Porównanie odsetka wyników dodatnich IMAGEN Parainfluenza z referencyjnym testem immunofluorescencyjnym na aspiratach nosogardłowych ze wszystkich centrów badań

IMAGEN reagent	Liczba wykryta przez referencyjny test immunofluorescencyjny	Liczba wykryta przez IMAGEN	% zgodności
Parainfluenza 1	24	24	100%
Parainfluenza 2	4	4	100%
Parainfluenza 3	34	33	97,0%
Parainfluenza Group	62	59	95,2%

14.2.2 Potwierdzenie w hodowli komórkowej

IMAGEN Parainfluenza virus Group

Badania wykonane testem grupowym IMAGEN Parainfluenza virus Group (Types 1, 2 and 3) wykazały korelację rzędu 98,3% ze standardowymi metodami (Tabela 14.7). Względna czułość i względna swoistość wyniosły odpowiednio 98,3% i 98,5%.

IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3

Wartości względnej czułości dla testów w kierunku poszczególnych typów wirusa Parainfluenza 1, 2 i 3 wyniosły odpowiednio 96,1%, 100% i 97,4%. Wartości względnej swoistości dla testów w kierunku poszczególnych typów wirusa Parainfluenza 1, 2 i 3 wyniosły odpowiednio 99,3%, 99,7% i 98,4%.

Tabela 14.7 Porównanie testu IMAGEN Parainfluenza virus ze standardowym potwierdzeniem przez hodowlę komórkową

IMAGEN Parainfluenza virus reagent	Liczba zbadanych próbek	Liczba próbek dodatnich w metodzie standardowej	IMAGEN Parainfluenza virus reagents ^a	
			Względna czułość	Względna swoistość
Parainfluenza 1 (95% zakres ufności)	322	51	96,1% (49/51) (86,5% - 99,5%)	99,3% (269/271) (97,4% - 99,9%)
Parainfluenza 2 (95% zakres ufności)	315	24	100% (24/24) (85,8% - 100%)	99,7% (290/291) (98,1% - 100%)
Parainfluenza 3 (95% zakres ufności)	345	155	97,4% (151/155) (93,5% - 99,3%)	98,4% (187/190) (95,5% - 99,7%)
Parainfluenza Group (95% zakres ufności)	363	229	98,3% (225/229) (95,6% - 99,5%)	98,5% (132/134) (94,7% - 99,8%)

^a Wyniki z jednego z czterech centrów badań zawierają pewną część na próbkach mrożonych.

^b Test IMAGEN Parainfluenza virus wykrył dwa szczepy typu 1 i jeden szczep typu 3, które nie zostały wykryte standardowymi metodami.

14.3. REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA

Mikroorganizmy wymienione w tabeli 14.8 zostały zbadane przy pomocy testów IMAGEN Parainfluenza virus Group i IMAGEN Parainfluenza virus Types 1, 2 and 3, i nie wykazały krzyżowej reaktywności. Badania przeprowadzono na rozmazach hodowli wzorcowych lub świeżych izolatach mikrobiologicznych.

Tabela 14.8 Organizmy testowane przyużyciu odczynników IMAGEN Parainfluenza virus, nie wykazujące reaktywności

Mikroorganizm	Źródło	Ilość zbadanych prób
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	NCTC 10116 broth culture deposit	1
<i>Adenovirus type 1</i>	Cell Culture	9
<i>Adenovirus type 2</i>	Cell Culture	5
<i>Adenovirus type 3</i>	Cell Culture	8
<i>Adenovirus type 4</i>	Cell Culture	3
<i>Adenovirus type 5</i>	Cell Culture	4
<i>Adenovirus type 7</i>	Cell Culture	3
<i>Adenovirus type 10</i>	Cell Culture	1
<i>Adenovirus type 41</i>	Cell Culture	1
<i>Bordetella parapertussis</i>	Cell Culture	1
<i>Bordetella pertussis</i>	Culture Medium	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	Culture Medium	1
<i>Candida albicans</i>	Culture Medium	1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Cell Culture & Culture Medium	1 każdego typu
<i>Chlamydia psittaci</i>	Cell Culture	2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Cell Culture	2
<i>Cowpox virus</i>	Cell Culture	1
<i>Coxsackie virus type A7</i>	Cell Culture	1
<i>Coxsackie virus type A9</i>	Cell Culture	1
<i>Coxsackie virus type B3</i>	Cell Culture	3
<i>Coxsackie virus type B4</i>	Cell Culture	1
<i>Coxsackie virus type B5</i>	Cell Culture	2
<i>Cytomegalovirus</i>	Cell Culture	2
<i>Echovirus type 5</i>	Cell Culture	1
<i>Echovirus type 11</i>	Cell Culture	1
<i>Echovirus type 19</i>	Cell Culture	2
<i>Echovirus type 30</i>	Cell Culture	4
<i>Epstein Barr virus</i>	Continuous cell culture line	1
<i>Escherichia coli</i>	Culture Medium	1
<i>Foamy virus</i>	Cell Culture	1
<i>Haemophilus influenzae</i>	Culture Media & Sputum deposit	1 każdego typu
<i>Herpes simplex virus type 1</i>	Cell Culture	3
<i>Herpes simplex virus type 2</i>	Cell Culture	2
<i>Influenza virus A</i>	Cell Culture	2
<i>Influenza virus B</i>	Cell Culture	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Culture Medium	1
<i>Legionella pneumophila</i>	Culture Medium	1
<i>Measles virus</i>	Cell Culture	3
<i>Mumps virus</i>	Cell Culture	8
<i>Mycobacterium avium</i>	Culture Medium	1
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Culture Medium	1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Culture Medium	1
<i>Mycoplasma arginini</i>	NCTC 10129 broth culture deposit	1
<i>Mycoplasma hominis</i>	NCTC 10111 broth culture deposit	1
<i>Mycoplasma hyorhinus</i>	NCTC 10130 broth culture deposit	1
<i>Mycoplasma orale</i>	NCTC 10112 broth culture deposit	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	NCTC 10119 broth culture deposit	1

Mikroorganizm	Źródło	Ilość zbadanych prób
<i>Mycoplasma salivarium</i>	NCTC 10113 broth culture deposit	1
<i>Neisseria cinerea</i>	Culture Medium	1
<i>Neisseria flavescens</i>	Culture Medium	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Culture Medium	1
<i>Neisseria lactamica</i>	Culture Medium	1
<i>Neisseria meningitidis</i> A, B, C & D	Culture Medium	1 każdego typu
<i>Neisseria mucosa</i>	Culture Medium	1
<i>Neisseria perflava</i>	Culture Medium	1
<i>Neisseria pharyngis</i>	Culture Medium	1
Parainfluenza virus 4a	Cell Culture	2
<i>Pneumocystis carinii</i>	Clinical Specimen	1
Polio virus type 1	Cell Culture	1
Polio virus type 2	Cell Culture	2
Polio virus type 3	Cell Culture	3
Respiratory syncytial virus	Cell Culture	8
Rhinovirus	Cell Culture	6
Sendai virus	Cell Culture	1
<i>Streptococcus groups</i> A, B, C, D, F and G	Culture Medium	1 każdego typu
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sputum Deposit	1
<i>Varicella zoster virus</i>	Cell Culture	2

15. PIŚMIENNICTWO

1. **Matthew, R.E.F. (1982)**
Classification and nomenclature of viruses. Fourth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.
Interviology **14**: 1-199.

2. **Welliver, R. (1982)**
Natural history of parainfluenza virus infection in childhood.
Journal of Paediatrics **101**: 180-187

3. **Martin, A.J., Gardener, P.S., and McQuillin, J. (1978)**
Epidemiology of respiratory viral infection among paediatric outpatients over a six year period in North East England.
The Lancet ii: 1035-1038

4. **Cullen, S.J., Baublis, J.V. (1980)**
Parainfluenza type 3 parotitis in two immunodeficient children.
Journal of Paediatrics **96**: 437-438

5. **Jarvis, W.R., Middleton, A.J., Gelford, E.W. (1979)**
Parainfluenza pneumonia in severe combined immunodeficiency.
Journal of Paediatrics **94**: 423-429

6. **Purkiss, D. (1983)**
Parainfluenza infections in the elderly.
PHLS Communicable Disease Report **83/19**: 3

7. **McClean, D.M. and Wong, K.K. (1984)**
Same day diagnosis of human virus infections.
CRS Press, Boca Raton, Florida.

8. **Gardener, P.S. and McQuillen, J. (1980)**
Rapid virus diagnostics: Applications of immunofluorescence.
2nd edn. Butterworths, London.

9. **Ray, C.G. and Minnich, L.C. (1987)**
Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses.
Journal of Clinical Microbiology **25**:355-357

10. **McClean, D.M. (1988)**
Virological infections.
Thomas Springfield, Illinois.

11. **McClean, D.M., Bannatyre, R.M. and Givan, K.F. (1967)**
Myxovirus dissemination by air.
Canadian Medical Association Journal **89**: 1257-59

12. **Gardener, P.S., McQuillin, J., McGuckin, R. and Ditchburn, R.K. (1971)**
Observations on clinical and immunofluorescent diagnosis of parainfluenza virus infections.
BMJ **2**: 571-575

13. **McClean, D.M. (1991)**
Parainfluenza viruses.
Zuckerman, A.J., Banatvala, J.E., Pattison, J.R. eds.
Principle and Practice of Clinical Virology
2nd Edition, J. Wiley & Sons: 239-251

14. **Anestad, G. (1987)**
Surveillance of respiratory viral infection by rapid immunofluorescence with emphasis on viral interference.
Epidemiology and Infection **99**: 523-531



X7849 Zmieniony Luty 2013



K610411-2,

 50 tests



K610311-2

 50 tests



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, Wielka Brytania

W sprawie wszelkich pytań proszę kontaktować się z miejscowym dystrybutorem.