

Celldlingslinjer rekommenderade för odling och isolering av parainfluensavirus.

En negativ kontrollskiva som förberetts med icke infekterade celler av den typ som används för odling och isolering av parainfluensavirus. Cellerna skall förberedas och fixeras såsom beskrivs i avsnitt 9.1 och färgas såsom beskrivs i avsnitt 10.

8. FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD - För diagnostisk användning *in vitro*. Var och en som utför en assay med denna produkt måste vara utbildad i dess användning och erfaren med laboratoriearbete.

8.1. SÄKERHETSÅTGÄRDER

- 8.1.1 IMAGEN parainfluensavirus testreagent innehåller <0.1% sodiumazid, vilket är giftigt. Sodiumazid kan reagera med rörsystem av koppar eller bly och bilda explosiva metallazider. Spola alltid med stora mängder vatten vid bortscaffandet av material innehållande azid.
- 8.1.2 Parainfluensavirus på kontrolltäckskivan har påvisats vara icke infektiöst vid celldodling. Dock skall skivorna hanteras och bortscaffas som om de vore potentiellt infektiösa.
- 8.1.3 Reagenset innehåller färgämnet Evans blue. Även om produkten förekommer i så låg koncentration att den inte klassificeras som cancerframkallande bör kontakt med huden undvikas.
- 8.1.4 Försiktighet bör alltid iaktas vid användning av monteringsvätskan eftersom den innehåller ett känt modeririterande ämne. Koncentrationen är så låg att produkten inte klassificeras som ett irriterande ämne, men huden bör ändå sköljas med vatten i händelse av kontakt.
- 8.1.5 Inom det utsedda arbetsområdet skall man ej äta, dricka, röka, lagra eller bereda mat eller lägga på kosmetika.
- 8.1.6 Pipettera ej med munnen.
- 8.1.7 Använd engångshandkar vid hanteringen av kliniska prov och infekterade celler och tvätta alltid händerna efter arbete med infekterat material.
- 8.1.8 Kast bort alla kliniska prover i enlighet med lokala bestämmelser.
- 8.1.9 Blad med säkerhetsdata finns tillgängligt för professionella användare.
- 8.2. **TEKNISKA FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER**
- 8.2.1 Komponenterna skall ej användas efter det utgångsdatum som tryckts på etiketterna. Blanda eller byt ej ut olika partier/poster med reagenser.
- 8.2.2 Reagenserna levereras i fasta arbetskoncentrationer. Testerna kan allvarligt påverkas om reagenserna ändras eller lagras under andra förhållanden än de som anges i avsnitt 5.
- 8.2.3 Typade reagenser bör ej poolas eller användas tillsammans på en täckglasbrunn eftersom testets resultat kan påverkas kraftigt.
- 8.2.4 Förbered färsk fosfatbuffrad salin (PBS) för dagens behov.
- 8.2.5 Tvättning i PBS är nödvändigt. Användning av annan tvättlösning, såsom kranvatten eller destillerat vatten kan äventyra resultaten.
- 8.2.6 Undvik mikrobiell kontaminering av reagenserna.
- 8.2.7 Reagenserna får ej vara frusna.

9. INSAMLING OCH FÖRBEREDELSE AV PROVER

Insamling och förberedelse av preparaten är av fundamental betydelse vid diagnostiseringen av parainfluensaviruset genom celldodling. Preparat måste insamlas på infektionens plats vid maxtidpunkten för virusavgång så att de innehåller så mycket infekterat material som möjligt.

Det rekommenderade respiratoriska preparatet är nasofaryngealt aspirat (NPA) vilket bör tillhandahålla stora mängder respiratoriska epiteliala celler.

9.1. KLINISKA PREPARAT

9.1.1 Nasofaryngeal aspiration/sekret

Insamling

Insamla preparat från det nasofaryngeala området med en slemsug genom en matningslang storlek 8. Slemsug och slang bör hållas vid 2–8°C och skickas till laboratoriet så snart som möjligt för behandling.

Cellseparation

Tillsätt om nödvändigt 2mL fosfatbuffrad salin (PBS) till preparatet innan centrifugeringen för att reducera viskositeten och späda ut slemmet. Centrifugera slemsugen vid rumstemperatur (15–30°C) i omkring tio minuter vid 380g. Avlägsna supernatanten som kan användas för celldodling. Återsuspendera cellavlagringen i 2mL PBS och pipettera varsamt upp och ned med en vid pipett, eller vortexblanda varsamt, till dess slemmet har brutits upp och släppt det cellära materialet. För att undgå att skada cellerna skall våldsam pipettering/vortexblandning undvikas. När man uppnått en slät suspension tillsätts den nödvändiga mängden PBS och man pipetterar eller vortexblandar för att ytterligare tvätta cellerna. På det här stadiet skall allt kvarvarande, synligt slem avlägsnas och kastas bort. Överflödigt slem måste avlägsnas eftersom detta kommer att förhindra genomträngningen av reagensen och orsaka icke specifik fluorescens.

Om allt sekret kvarstår i matningsslangen och inget når slemsugen skall allt sekret sköljas ut ur slangen in i PBS. Detta uppnås bäst genom att föra in en pasteurpipett i den ände av slangen som är ansluten till slemsugen. Sug upp lämplig vätska i slangen och för ut den upprepade gånger till dess det sekret som sitter fast på slangens vägg har lossnat. Pipettera denna lösning upp och ned till dess slemmet har brutits upp ordentligt.

Förberedelse av glas

Efter att ha avslutat cellsepareringen centrifugeras den kvarvarande celllösningen vid rumstemperatur (15–30°C) i tio minuter vid 380g och supernatanten kastas. Återsuspendera de kvarvarande cellerna i tillräckligt PBS för att späda ut eventuellt kvarvarande slem medan man samtidigt bibehåller en hög celltäthet. Placera 25µL av de kvarvarande, återsuspenderade cellerna i brunnar med 6mm diameter på glaset.

En brunn krävs för IMAGEN parainfluensaviruset grupptest (kodnr. K6103). Tre brunnar krävs för IMAGEN parainfluensavirustesterna, typerna 1, 2 och 3 (kodnr. K6104).

Tillåt preparaten att torka ordentligt vid rumstemperatur (15–30°C) och fixera i färsk aceton vid rumstemperatur (15–30°C) i tio minuter. Skulle preparatet ej färgas omedelbart skall det lagras vid –70°C till dess det behövs. Lagrade täckglas skall testas inom två veckor efter preparationen eftersom försämring kan inträffa vid långvarig förvaring.

9.2. BEKRÄFTELSE OCH TYPNING AV CELLDODLING

Inokulering av celldodlingar

Preparat insamlade för diagnos av infektioner med parainfluensavirus skall inokuleras in i de cellinjer som används rutinmässigt i laboratorier enligt etablerade laboratorierutiner. Celldodlingar bör regelbundet undersökas beträffande uppträdandet av cytopatisk effekt (CPE) och hemabsorbtionen testas regelbundet. Varje hemabsorbtion med positiv odling eller celldodlingar som visar tecken på CPE kan skördas och testas för parainfluensavirus.

Förberedelse av glas

Skrapa med hjälp av en steril pipett ned lagret med celler i odlingsmediet. Depostera cellerna genom centrifugering vid 200g i tio minuter vid rumstemperatur (15–30°C) och avlägsna supernatanten.

Tvätta cellerna genom att resuspendera de deposterade cellerna i PBS och upprepa centrifugeringen. Avlägsna supernatanten och resuspendera celldepositen i en liten mängd (75–100µL per odlingsrör) färsk PBS för att upprätthålla en hög celltäthet.

Placera 25µL alikvot med cellösning i de individuella brunnarna på täckglaset.

En brunn krävs för IMAGEN Parainfluensavirus grupptest (kodnr. K6103).

Tre brunnar krävs för IMAGEN parainfluensavirustesterna, typerna 1, 2 och 3 (kodnr. K6104).

Låt torka ordentligt vid rumstemperatur (15–30°C) och fixera i färsk aceton vid rumstemperatur (15–30°C) i tio minuter. I de fall preparaten inte färgas omedelbart skall de lagras över natten vid 4°C eller vid längre lagring frysas vid –20°C. Lagrade täckglas skall testas inom två veckor efter preparationen eftersom försämring kan inträffa vid långvarig förvaring.

10. TESTFÖRFARANDE

SE SEKTION 8.2 TEKNISKA FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER INNAN TESTFÖRFARANDET GENOMFÖRS

För testförfarande, se avsnitt 10.1 för IMAGEN parainfluensavirus grupp (Kodnr. K6103) samt avsnitt 10.2 för IMAGEN parainfluensavirus typ 1, 2 och 3 (kodnr. K6104)

10.1. IMAGEN PARAINFLUENSAVIRUS GRUPP - K6103

10.1.1 Tillsats av reagens

Tillsätt 25µL reagens G till det fixerade cellpreparatet (se avsnitt 9.1), den positiva kontrollskivan och den negativa kontrollskivan. Se till att reagensen täcker hela brunnområdet.

10.1.2 Första inkubationen

Inkubera skivorna med reagens i en **fuktkammare i 15 minuter vid 37°C. Låt ej** reagensen torka på preparaten eftersom detta kommer att orsaka icke specifik färgning.

10.1.3 Tvätt av skivan

Tvätta av överflödlig reagens med fosatbuffrad salin (PBS), följt av en försiktig tvätt av skivan i fem minuter i ett agiterande bad innehållande PBS. Låt PBS rinna av och låt skivan lufttorka vid rumstemperatur (15–30°C).

10.1.4 Tillsättning av monteringsvätska

Tillsätt en droppe monteringsvätska i centrum av varje brunn och placera täckglaset över monteringsvätska och preparat. Se till att det inte förekommer några luftbubblor.

10.1.5 Avläsning av skivan

Undersök hela området med brunnen som innehåller det färgade preparatet med hjälp av ett epifluorescerande mikroskop. Fluorescens, som beskrivs i avsnitt 11, skall kunna ses vid en förstoring av x200 – x500. (För bäst resultat bör skivorna undersökas omedelbart efter färgningen men kan lagras vid 2–8°C i mörker i upp till 72 timmar.)

10.2. IMAGEN PARAINFLUENSAVIRUS TYPERNA 1, 2 OCH 3 – K6104

10.2.1 Tillsats av reagens

Tillsätt 25µL reagens 1 till den första brunnen, 25µL reagens 2 till den andra brunnen och 25µL reagens 3 till den tredje brunnen i det fixerade preparatet (se avsnitt 9.1) samt de positiva och negativa kontrollskivorna. Se till att reagensen täcker hela brunnområdet.

10.2.2 Första inkubationen

Inkubera skivorna med reagens i en **fuktkammare i 15 minuter vid 37°C. Låt ej** reagensen torka på preparaten eftersom detta kommer att orsaka icke specifik färgning.

10.2.3 Tvätt av skivan

Tvätta av överflödlig reagens med fosatbuffrad salin (PBS), följt av en försiktig tvätt av skivan i fem minuter i ett agiterande bad innehållande PBS. Låt PBS rinna av och låt skivan lufttorka vid rumstemperatur (15–30°C).

10.2.4 Tillsättning av monteringsvätska

Tillsätt en droppe monteringsvätska i centrum av varje brunn och placera täckglaset över monteringsvätska och preparat. Se till att det inte förekommer några luftbubblor.

10.2.5 Avläsning av skivan

Undersök hela området med brunnen som innehåller det färgade preparatet med hjälp av ett epifluorescerande mikroskop. Fluorescens, som beskrivs i avsnitt 11, skall kunna ses vid en förstoring av x200 – x500. (För bäst resultat bör skivorna undersökas omedelbart efter färgningen men kan lagras vid 2–8°C i mörker i upp till 72 timmar.)

11. TOLKNING AV TESTRESULTATEN

11.1. KONTROLLER

11.1.1 Positiv kontrollskiva

Vid betraktning efter färgning, såsom beskrivs i avsnitt 10, skall den positiva kontrollskivan visa celler med intracellulär nukleär och/eller cytoplasmisk äppelgrön fluorescens som kontrasterar mot en bakgrund av rött kontrastfärgat material. Positiva kontrollskivor skall användas för att kontrollera att färgningproceduren har utförts på rätt sätt.

Tre skivor är förberedda med parainfluensavirusstammar i monolager i celldodlingen och kommer endast att ge adekvat kontroll för testet och inte förfaringsstegen med preparatet. Förfarandet med preparaten bör kontrolleras med hjälp av positivt kliniskt material.

11.1.2 Negativ Kontroll

Negativa kontrollskivor måste förberedas från intakta, icke infekterade celler av den typ som används i odlingen och isoleringen av parainfluensavirus. Dessa celler bör prepareras och fixeras såsom beskrivs i avsnitt 9.2 och färgas såsom beskrivs i avsnitt 10. Cellerna på den negativa kontrollen färgas röda med Evans blå kontrastfärgning.

Skivor förberedda på detta sätt kommer endast att tillhandahålla adekvat kontroll för testförandet och inte föraringsstegen med proverna. Förandet med proverna bör kontrolleras med hjälp av negativt kliniskt material.

11.2. KLINISKA PREPARAT

11.2.1 Utseendet på celler infekterade med parainfluensavirus Intracellulär, nukleär och/eller cytoplamatisk granulär äppelgrön fluorescens kan ses i respitoriska epiteliumceller som infekterats med parainfluensavirus.

Icke infekterade celler färgas röda med evans blå kontrastfärgning.

11.2.2 Tolkning av resultaten

En positiv diagnos föreligger när en eller flera celler i det fixerade färgningspreparatet visar den specifika fluorescensen som beskrivs i avsnitt 11.2.1 med IMAGEN parainfluensavirus gruppreagens eller om en av de individuella IMAGEN parainfluensavirusen av typerna 1, 2 och 3 reagensen. Resultaten skall tolkas som positiva för antigenen för parainfluensavirus.

En negativ diagnos görs när fixerat, färgat preparat inte uppvisar fluorescens med antingen IMAGEN parainfluensavirus gruppreagens eller en av de individuella IMAGEN parainfluensavirusen av typerna 1, 2 och 3 reagensen. Resultatet skall tolkas som negativt för antigenen för parainfluensavirus, odlingsresultat följer.

Vid direkt färgade preparat med nasofaryngealt aspirat skall minst 20 icke infekterade respiratoriska epiteliumceller observeras innan ett negativt resultat kan rapporteras. Se avsnitt 11.2.3 om otillräckligt antal celler finns närvarande.

11.2.3 Otillräckligt antal celler

I de fall otillräckligt med celler finns på skivan skall resten av det kliniska preparatet centrifugeras vid 380 G i tio minuter vid rumstemperatur (15-30°C). Resuspendera i en mindre mängd PBS före återförsel (25µl) till brunnsområdet. Alternativt kan man begära ett nytt kliniskt preparat.

11.3. BEKRÄFTELSE OCH TYPNING AV CELLODLING

11.3.1 Utseendet på celler infekterade med parainfluensavirus. Infekterade celler kommer att uppvisa intracellulär, nukleär och/eller cytoplasmisk äppelgrön fluorescens och skall anges som positiva för parainfluenta.

Icke infekterade celler färgas röda med evans blå kontrastfärgning och skall anges som negativa för parainfluenta.

11.3.2 Tolkning av resultaten

Ett positivt resultat föreligger när en eller flera celler i det fixerade färgningspreparatet visar det typiska fluorescensmönstret som beskrivs i avsnitt 11.3.1 med IMAGEN parainfluensavirus gruppreagens eller en av de individuella IMAGEN parainfluensavirusen av typerna 1, 2 och 3 reagensen. Minst 50 icke infekterade celler i den cellodling som testas måste observeras på varje skiva innan ett negativt resultat kan rapporteras. Se avsnitt 11.2.3 om otillräckligt antal celler finns närvarande.

11.3.3 Kvalitetskontroll

Positiv och negativ kontroll skall färgas och undersökas vid varje tillfälle som IMAGEN parainfluenta reagens används vid bestämning av närvaron av parainfluenta i infekterade cellodlingar.

De levererade kontrollskivorna tjänar som en lämplig kontroll för bestämning av reagensens korrekta utfall av färgningsteknik

och reaktivitet med celler infekterade med parainfluensavirus. Ytterligare positiva kontrollskivor finns hos Oxoid (kodnr. S6111).

Reagenser och teknik bör kontrolleras med hjälp av ett utstryck av negativa kontrollceller från oypad (icke infekterad) cellodling av den typ som används vid isolering av parainfluensavirus.

I de fall en otillräcklig mängd celler observeras (mindre än 50) i testen eller ett negativt preparat i en brunn i en skiva skall återstående provet med cellodling centrifugeras vid 200g i tio minuter vid rumstemperatur (15 30°C) och resuspenderas i en mindre volym (cirka 50µl) PBS. Placera 25µl cellsuspension i individuella brunnar och behandla såsom beskrivet i avsnitt 9 och 10.

I de fall man använder både grupp och typningsreagens av IMAGEN parainfluensavirus och negativt resultat uppnås med de tre individuella reagenserna efter att ett positivt resultat uppnås med gruppreagensen, skall ytterligare utstryk förberedas och testen upprepas. Alternativt skall odlingen spridas för att förstärka mängden virus och antalet infekterade celler innan immunofluorescenstestet upprepas.

12. BEGRÄNSNINGAR I RESULTATEN

12.1. Använd endast den medlevererade monteringsvätskan.

12.2. Icke specifik färgning kan ibland observeras som en artefakt i immunokemiska tester, beroende på bindning mellan antikropp Fc regioner och protein A antigener funna i cellväggen i några stammar av *Staphylococcus aerus*. Reagenserna i testet IMAGEN parainfluensavirus har modifierats för att reducera bindningen till protein A i Cowan 1 stammen hos *Staphylococcus aureus*. Dock uppvisar den antikropp som användes i reagensen för parainfluensavirus typ 1 en mycket svag korsreaktion med protein A hos *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* kan finnas i kliniska preparat och därför inokulerad i cellodlingen där dess replikation bör inhiberas av antimikrobialer. *Staphylococcus aureus* visar sig alltid som tetrader eller vindruvsliknande klasar med koccier (vardera cirka 1µm i diameter) och är troligen extracellulära till skillnad från den karakteristiska intracellulära, fingranulära färgning som ses i cellodlingar infekterade med parainfluensavirus.

12.3. Typ och kondition på de instrument som används kommer att påverka utseendet på den bild som uppnås. Slutprodukten kan variera beroende på typen av mikroskop som användes, ljuskällan, flödeslampans ålder, filternhet och filtertjocklek, skillnader i känslighet i antigensubstratet eller vilket assayförfarande som använts. Varje laboratorium bör etablera sina egna kriterier för avläsandet av slutprodukten med hjälp av lämpliga kontroller.

12.4. Att misslyckas att upptäcka ett parainfluensavirus i en cellodling kan bero på faktorer som felaktig insamling, felaktig provtagning och/eller hantering av preparatet, felaktigheter vid cellodlingen etc. Ett negativt resultat utesluter inte möjligheten för en infektion med parainfluensavirus.

12.5. Båda reagenserna för IMAGEN parainfluenta grupp och typning reagerar med antigenen för parainfluensaviruset som finns i den infekterade cellen. Dock är ett positivt resultat inte en indikator på livskraften hos det närvarande parainfluensaviruset.

12.6. De monoklonala antikroppar som används i IMAGEN parainfluenta grupp och typningsreagens har uppdragits mot prototypen för parainfluensastammarna. Antikropparna upptäcker inte alla antigenetiska varianter eller nya stammar av parainfluensaviruset.

12.7. Antigenetiska variationer hos de epitoper som skall nås av de monoklonala antikroppar som finns i IMAGEN parainfluenta grupp och typningstest skapar nya antigenetiska varianter som inte längre kan kännas igen av dessa antikroppar.

12.8. Utbredningen av analytet kommer att påverka det förutsäggande värdet av assayen.

12.9. Utseendet på den införskaffade fluorescerande bilden kan variera beroende på typ av mikroskop eller ljuskälla som användes.

12.10. Det rekommenderas att 25µl reagens används för att täcka ett brunnsområde om 6mm. En reduktion av denna volym kan orsaka problem med att täcka området för preparatet och kan reducera känsligheten.

12.11. Alla reagenser levereras i fasta arbetskoncentrationer. Testresultatet kan påverkas om reagenserna ändras på något sätt eller inte lagras under de rekommenderade förhållandena.

12.12. Testresultaten bör tolkas tillsammans med tillgänglig information från epidemiologiska studier, klinisk bedömning av patienten och andra diagnostiska förfaranden.

13. FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Isoleringstakten för parainfluensavirus kan variera beroende på den använda testtypen, metod, tidpunkt och plats för insamling av preparat, hantering, förvaring och transport av prover. Det är även beroende av befolkningens utbredningstakt, dess ålder, geografisk lokalisering och den socioekonomiska statusen hos den testade befolkningen.

Parainfluensavirus av typ 1, 2 och 3 är utbredda över hela världen och associeras med luftvägsinfektioner i tempererade, tropiska och artiska klimat¹⁰. De flesta infektioner drabbar små barn under fem års ålder hos vilka parainfluensavirus står för 20% av luftvägsinfektionerna och 30 – 40% av fallen med krupp^{11,12}.

Över 90% av alla spädbarn kommer att genomgå en primärinfektion med ett parainfluensavirus och upp till 50% kan genomgå symptomatiska återinfektioner².

Parainfluensavirus uppvisar en hög utbredningstakt under säsongartade utbrott av luftvägsinfektioner. I tempererade zoner är parainfluensaviruset vanligen associerat med utbrott under höst- och vintermånaderna^{13, 14}. I en del länder kan utbrott av parainfluensavirus typ 3 även inträffa under vår- och sommarmånader³.

Utbrott hos barn i åldern mellan 1 och 5 år har hög utbredningstakt. Infektioner och återkommande infektioner hos äldre barn och vuxna associeras vanligen med mildare luftvägssymptom.

Parainfluensavirus har varit delaktiga i utbrott av luftvägsinfektioner på sjukhus, speciellt på barnavdelningar och inom åldringsvården, där det har satts i samband med ökad sjukdom och dödlighet⁶.

Under vintern 1994 – 95 var den totala förekomsten av parainfluensavirus vid ett procenter, baserat på resultat från virusisolering, uppdelat på 12,5% (21/168) för parainfluensavirus

typ 1, 1,8% (3/168) för parainfluensavirus typ 2 och 14,3% (24/168) för parainfluensavirus typ 3. Dessa siffror representerar inte den korrekta förekomsten för parainfluensavirus i den totala befolkningen eftersom preparaten togs från en utvald population under utredning av luftvägsinfektioner.

14. SPECIFIKA KARAKTERISTIKA FÖR UTFALLET

14.1. KLINISKA STUDIER

14.1.1 Direkta preparat

IMAGEN parainfluensavirus grupptest och IMAGEN parainfluensavirus 1, 2 och typningstest utvärderades för direkt användning på nasofaryngealt sekret vid tre center, ett i USA och två i Storbritannien. Direkta preparat insamlades under vintern 1994 – 95.

Detta kliniska försök utfördes med hjälp av nasofaryngealt aspirat från patienter med misstänkt infektion i luftvägarna och insamlades och bearbetades enligt anvisningarna i avsnitt 9.1.1. Acetonfixerade skivor testades antingen färska (lagrade vid 2 – 8°C och testade inom tre dagar) eller frusna och testade vid en senare tidpunkt. Den standardmetod (referens) som användes var ett kommersiellt tillgängligt indirekt immunofluorescenstest och virusisolering och identifiering.

Ett preparat angavs som positivt med gruppreagens för IMAGEN parainfluensavirus eller reagensen för IMAGEN parainfluensavirus typ 1, 2 och 3 i de fall ett eller flera respiratoriska epiteliumceller visade det typiska mönster med fluorescens som beskrivs i avsnitt 11.2.1.

14.1.2 Bekräftelse med odling

Kliniska försök gjordes vid fyra center i Storbritannien med IMAGEN parainfluensavirus grupptest och IMAGEN parainfluensavirus 1, 2 och 3 typningstest. Dessa kliniska försök gjordes under perioden juli – oktober 1991. Under denna tid var den totala förekomsten av parainfluenta vid ett center 14,4% (15/104) för parainfluenta 1 virus och 8,7% (9/104) för parainfluenta 3 virus.

Dessa siffror representerar inte den korrekta förekomsten av parainfluensavirus i den totala befolkningen eftersom preparaten togs från en utvald population under utredning av luftvägsinfektioner. Studierna gjordes på prover som beretts från monolagericellodlingar inokulerade med kliniska prover, insamlade från patienter med misstänkt infektion från parainfluensavirus. Standardmetoderna för identifiering av parainfluensaviruset i cellodlingar var antingen en neutraliseringstest eller indirekt immunofluorescens. Reagenserna för IMAGEN parainfluensavirus testades även för korsreaktivitet mot ett antal mikroorganismer vilka troligen skulle förekomma i ett kliniskt rutinprov (se avsnitt 14.3).

14.2. KLINISKT UTFALL

14.2.1 Direkta preparat

Totalt testades 222 prover från patienter med förmodad luftvägsinfektion med IMAGEN parainfluenta-virus grupptest och IMAGEN parainfluensavirus typ 1, 2 och 3. Under vintern 1994 – 95 samlades totalt 184 prover in från en barnpopulation vid ett center i nordöstra USA och utvärderades för att bestämma testets känslighet och specificitet. Huvuddelen av dessa testades i jämförelse med virusisolering och ett mindre antal testades med indirekt immunofluorescenstest i jämförelse med referensen. Tabellerna 14.1 och 14.2 visar resultaten från centret i USA. Vid de två centren i Storbritannien utvärderades ett urval prover som var känt för att innehålla parainfluensavirus för att utöka det antal positiva prover som insamlats. Resultaten av dessa kan avläsas

i tabell 14.3 och 14.4. Resultaten som jämför de positiva talen för parainfluensavirusen vid samtliga center visas i tabell 14.5 och 14.6.

IMAGEN parainfluensavirus grupp (typerna 1, 2 och 3)

Vid centret i USA visade IMAGEN parainfluensavirus grupp (typ 1, 2 och 3) testen en korrelation om 97,6% mot virusodling och 98,4% mot referensen indirekt immunofluorescenstest. Den relativa känsligheten och specificiteten hos IMAGEN parainfluensavirus grupp (typ 1, 2 och 3) testen var respektive 97,9% och 97,5% vid jämförelse med virusisolering. I jämförelse med referensen indirekt immunofluorescenstest var relativ känslighet och specifcitet 96,2% och 99,0%, respektive.

IMAGEN™ parainfluensavirus typ 1

Vid centret i USA visade reagensen för IMAGEN parainfluensavirus typ 1 en korrelation, känslighet och specificitet av 100% vid jämförelse med virusisolering och referensen immunofluorecenstest.

IMAGEN parainfluensavirus typ 2

Vid centret i USA visade reagensen för IMAGEN parainfluensavirus typ 2 en korrelation, känslighet och specifcitet av 100% vid jämförelse med virusisolering och referensen immunofluorecenstest.

IMAGEN parainfluensavirus typ 3

Vid centret i USA visade reagensen för IMAGEN parainfluensavirus typ 3 en korrelation av 97,6%, känslighet 91,6% och specificitet 98,6% vid jämförelse med virusisolering. I jämförelse med referensen indirekt immunofluorescenstest var korrelationen 98,4%, relativ känslighet 75% och specificitet 99,1%.

Tabell 14.1 Jämförelse av utfall med reagens för IMAGEN parainfluensavirus med virusisolering på nasofaryngealt aspirat vid center i USA

Reagenser för IMAGEN parainfluensavirus				
IMAGEN parainfluensavirus reagens	Antal prover som testats	Antal prover positiva vid virusisolering	Känslighet	Specificitet
Parainfluenta 1 (95% förtroendeintervall)	168	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (147/147) (97,51%-100%)
Parainfluenta 2 (95% förtroendeintervall)	168	3	100% (3/3) (29,3%-100%)	100% (165/165) (97,79%-100%)
Parainfluenta 3 (95% förtroendeintervall)	168	24	92% (22/24) (73,0%-98,97%)	98,6% (142/144) (95,08%-99,83%)
Parainfluenta grupp (95% förtroendeintervall)	168	48	97,9 (47/48) (89,0% - 99,95%)	97,5% (117/120) (92,89% - 99,48%)

Tabell 14.2 Jämförelse med reagens för IMAGEN parainfluensavirus med referens immunofluorescens på nasofaryngealt aspirat vid center i USA

Reagenser för IMAGEN parainfluensavirus				
IMAGEN parainfluenta virusreagens	Antal prover som testats	Antal prover positiva till referens immuno-fluorescens	Relativ känslighet	Relativ specificitet
Parainfluenta 1 (95% förtroendeintervall)	127	21	100% (21/21) (84,0%-100%)	100% (127/127) (96,59%-100%)
Parainfluenta 2 (95% förtroendeintervall)	127	1	100% (1/1) (2,5%-100%)	100% (127/127) (97,12%-100%)
Parainfluenta 3 (95% förtroendeintervall)	127	4	75% (3/4) (19,4%-99,37%)	99,1% (122/123) (95,55%-99,98%)
Parainfluenta grupp (95% förtroendeintervall)	127	26	96,2% (25/26) (80,4% - 99,9%)	99,0% (100/101) (94,61% - 99,98%)

Obs: Observera att ‘relativ’ refererar till jämförelsen med denna assays resultat med den av en liknande assay. Det gjordes inget försök att rätta assayens resultat med förekomst eller

ingen förekomst av sjukdom. Ingen bedömning kan göras med jämförelseassayens noggrannhet att förutsäga sjukdom.

Tabell 14.3 Jämförelse av utfall med reagenser för IMAGEN parainfluenta med virus isolering av nasofaryngeala aspirat vid två center i Storbritannien

Virusisolering IMAGEN reagens	Pos	Neg	Pos	Neg
	Pos	Neg	Neg	Pos
Parainfluenta 1	n = 35	3	31	0
Parainfluenta 2	n = 35	2	32	1*
Parainfluenta 3	n = 35	27	7	1*
Parainfluenta grupp	n = 35	30	0	4***

*Båda proverna var negativa vid referens immunofluorescens.
**Detta preparat var även positivt med referens immunofluorescens
*** Två av dessa preparat var negativa även med referens immunofluorescens.

Tabell 14.4 Jämförelse av utfall med reagenser för IMAGEN parainfluenta med referens immunofluorescens av nasofaryngealt aspirat vid två center i Storbritannien

Referens immunofluorescens IMAGEN reagens	Pos	Neg	Pos	Neg
	Pos	Neg	Neg	Pos
Parainfluenta 1	n = 38	3	35	0
Parainfluenta 2	n = 38	3	35	0
Parainfluenta 3	n = 38	30	8	0
Parainfluenta grupp	n = 38	34	2	2*

* Ett preparat rapporterades innehålla ett fåtal celler.

Tabell 14.5 Jämförelse av frekvensen av parainfluenta positivitet med IMAGEN parainfluenta reagenser och virusisolering på nasofaryngealt aspirat från samtliga center

IMAGEN reagens	Antal upptäckta med virusisolering	Antal upptäckta med IMAGEN	% överens-stämmelse
Parainfluenta 1	24	24	100%
Parainfluenta 2	6	5	83,3%
Parainfluenta 3	52	49	94,2%
Parainfluenta grupp	82	77	93,9%

Tabell 14.6 Jämförelse av frekvensen av parainfluenta positivitet med IMAGEN parainfluenta reagens och referens immunofluorescens på nasofaryngealt aspirat från all center

IMAGEN reagens	Antal upptäckta med referens immunofluorescens	Antal upptäckta med IMAGEN	% överens-stämmelse
Parainfluenta 1	24	24	100%
Parainfluenta 2	4	4	100%
Parainfluenta 3	34	33	97,0%
Parainfluenta grupp	62	59	95,2%

14.2.2 Bekräftelse med odling

IMAGEN parainfluensavirus grupp

Testet med IMAGEN parainfluensavirus grupp (typ 1, 2 och 3) visade en korrelation om 98,3% med standardmetoder (tabell 14.7). Den relativa känsligheten och relativa specificiteten i testet var 98,3% och 98,5%, respektive.

IMAGEN parainfluensavirus typ 1, 2 och 3

Den relativa känsligheten för reagenserna för de individuella parainfluensavirusen typ 1, 2 och 3 var respektive 96,1%, 100% och 97,4%. Den relativa specificiteten för reagenserna för de individuella parainfluensavirusen typ 1, 2 och 3 var respektive 99,3%, 99,7% och 98,4%.

Tabell 14.7 Jämförelse av reagenserna för IMAGEN parainfluensavirus med standardmetoder för bekräftelse av odling

IMAGEN parainfluenta virus reagens	Antal prover testade	Antal prover positiva med standardmetoder	Reagens* för IMAGEN parainfluensavirus	
			Relativ känslighet	Relativ specificitet
Parainfluenta 1 (95% förtroendeintervall)	322	51	96,1% (49/51) (86,5% - 99,5%)	99,3% (269/271) (97,4% - 99,9%)
Parainfluenta 2 (95% förtroendeintervall)	315	24	100% (24/24) (85,8% - 100%)	99,7% (290/291) (98,1% - 100%)
Parainfluenta 3 (95% förtroendeintervall)	345	155	97,4% (151/155) (93,5% - 99,3%)	98,4% (187/190) (95,5% - 99,7%)
Parainfluenta grupp (95% förtroendeintervall)	363	229	98,3% (225/229) (95,6% - 99,5%)	98,5% (132/134) (94,7% - 99,8%)

- a Resultaten från ett av de fyra försökcentren inkluderar ett antal frusna prover.
- b Reagenserna för IMAGEN parainfluensavirus upptäckte två typ 1 stammar och en typ 3 stam vilka inte upptäcktes med standardmetoder.

14.3. KORSREAKTIVITET

De mikroorganismer som anges i tabell 14.8 testades i IMAGEN parainfluensavirus grupp och IMAGEN parainfluensavirus typ 1, 2 och 3 testerna och uppvisade ingen korsreaktivitet. Studierna med korsreaktivitet utfördes på glaspreparat av lagerodlingar eller nyligen utförda mikrobiella isolater.

Tabell 14.8 Organismer testade med samtliga reagenser för IMAGEN parainfluensavirus och funna vara icke reaktiva

Mikroorganism	Källa	Antal testade prover
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	NCTC 10116 avsättning buljongkultur	1
<i>Adenovirus typ 1</i>	Cellodling	9
<i>Adenovirus typ 2</i>	Cellodling	5
<i>Adenovirus typ 3</i>	Cellodling	8
<i>Adenovirus typ 4</i>	Cellodling	3
<i>Adenovirus typ 5</i>	Cellodling	4
<i>Adenovirus typ 7</i>	Cellodling	3
<i>Adenovirus typ 10</i>	Cellodling	1
<i>Adenovirus typ 41</i>	Cellodling	1
<i>Bordetella parapertussis</i>	Cellodling	1
<i>Bordetella pertussis</i>	Odlingsmedium	1
<i>Branhamella catarrhalis</i>	Odlingsmedium	1
<i>Candida albicans</i>	Odlingsmedium	1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Cellodling & odlingsmedium	1 av varje
<i>Chlamydia psittaci</i>	Cellodling	2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Cellodling	2
<i>Kokoppsvirus</i>	Cellodling	1
<i>Coxsackievirus</i>	Cellodling	1
<i>Coxsackievirus typ A9</i>	Cellodling	1
<i>Coxsackievirus typ B3</i>	Cellodling	3
<i>Coxsackievirus typ B4</i>	Cellodling	1
<i>Coxsackievirus typ B5</i>	Cellodling	2
<i>Cytomegalovirus</i>	Cellodling	2
<i>Echovirus typ 5</i>	Cellodling	1
<i>Echovirus typ 11</i>	Cellodling	1
<i>Echovirus typ 19</i>	Cellodling	2
<i>Echovirus typ 30</i>	Cellodling	4
<i>Epstein Barr virus</i>	Kontinuerlig cellodlingslinje	1
<i>Escherichia coli</i>	Odlingsmedium	1
<i>Foamy virus</i>	Cellodling	1
<i>Haemophilus influenzae</i>	Odlingsmedua & sputumfällning	1 av varje
<i>Herpes simplex virus typ 1</i>	Cellodling	3
<i>Herpes simplex virus typ 2</i>	Cellodling	2
<i>Influensavirus A</i>	Cellodling	2
<i>Influensavirus B</i>	Cellodling	2

Mikroorganism	Källa	Antal testade prover
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Odlingsmedium	1
<i>Legionella pneumophila</i>	Odlingsmedium	1
<i>Mässlingsvirus</i>	Cellodling	3
<i>Pössjukevirus</i>	Cellodling	8
<i>Mycobacterium avium</i>	Odlingsmedium	1
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	Odlingsmedium	1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Odlingsmedium	1
<i>Mycoplasma arginini</i>	NCTC 10129 avsättning buljongkultur	1
<i>Mycoplasma hominis</i>	NCTC 10111 avsättning buljongkultur	1
<i>Mycoplasma hyorhinus</i>	NCTC 10130 avsättning buljongkultur	1
<i>Mycoplasma oral</i>	NCTC 10112 avsättning buljongkultur	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	NCTC 10119 avsättning buljongkultur	1
<i>Mycoplasma salivarium</i>	NCTC 10113 avsättning buljongkultur	1
<i>Neisseria cinerea</i>	Odlingsmedium	1
<i>Neisseria flavescens</i>	Odlingsmedium	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Odlingsmedium	1
<i>Neisseria lactamica</i>	Odlingsmedium	1
<i>Neisseria meningitidis A, B, C & D</i>	Odlingsmedium	1 av varje
<i>Neisseria mucosa</i>	Odlingsmedium	1
<i>Neisseria perflava</i>	Odlingsmedium	1
<i>Neisseria pharyngis</i>	Odlingsmedium	1
<i>Parainfluensavirus 4a</i>	Cellodling	2
<i>Pneumocystis carinii</i>	Kliniska preparat.	1
<i>Poliovirus typ 1</i>	Cellodling	1
<i>Poliovirus typ 2</i>	Cellodling	2
<i>Poliovirus typ 3</i>	Cellodling	3
<i>Respiratoriskt syncytialvirus</i>	Cellodling	8
<i>Rhino-virus</i>	Cellodling	6
<i>Sendai virus</i>	Cellodling	1
<i>Streptococcus grupperna A, B, C, D, F och G</i>	Odlingsmedium	1 av varje
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sputumavsättning	1
<i>Varicella zoster virus</i>	Cellodling	2

15. REFERENSER

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.
2. **Welliver, R. (1982)**
Natural history of parainfluenta 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)**
Parainfluenta type 3 parotitis in two immunodeficient children.
Journal of Paediatrics **96**: 437-438
5. **Jarvis, W.R., Middleton, A.J., Gelford, E.W. (1979)**
Parainfluenta pneumonia in severe combined immunodeficiency.
Journal of Paediatrics **94**: 423-429
6. **Purkiss,D. (1983)**
Parainfluenta infections in the elderly.
PHLS Communicable Disease Report **83/19**: 3

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

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

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

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

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

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

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

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



X7849 Reviderad Februari 2013



K610411-2,

K610311-2



50 tests



50 tests



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, Storbritannien

Kontakta det lokala återförsäljare.