



Key Code TSMX7852A  
www.oxid.com/ifu

Europe +800 135 79 135                      US 1 855 2360 190  
CA 1 855 805 8539                      ROW +31 20 794 7071

# IMAGEN Respiratory Screen

|              |                  |                    |           |
|--------------|------------------|--------------------|-----------|
| <b>[REF]</b> | K6120111-2 ..... | <span>▽</span> 100 | <b>CS</b> |
|--------------|------------------|--------------------|-----------|

## 1. ÚČEL POUŽITÍ

Test IMAGEN™ Respiratory Screen je kvalitativní nepřímý imunofluorescenční test k presumptivní detekci RSV (respiračně syncytiálního viru), viru chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru ve vzorcích z respiračního traktu (aspirát z nosohltanu) a z buněčné kultury. Test nedokáže rozlišit jednotlivé viry. Ty lze dále identifikovat a potvrdit pomocí monoklonálních protilátek značených FITC, jako např. činidel z řady IMAGEN, či jinou metodou. Výsledky zjištěné u přímých vzorků z respiračního traktu je nutno potvrdit na izolátu z buněčné kultury.

## 2. SOUHRNNÉ INFORMACE

Virové infekce respiračního traktu bývají příčinou velkých výskytů respiračního onemocnění po celém světě, které mají významný dopad na zdravotní stav světové populace<sup>1,2,3</sup>. Viry způsobují onemocnění u všech věkových skupin, nejzávažnější jsou však infekce u kojenců a lidí starých a s oslabenou imunitou, které mohou vést i k hospitalizaci pacienta<sup>4</sup>. Oportunní hromadné infekce se mohou vyskytnout na pediatrických a geriatrických lůžkových odděleních, což má za následek dlouhodobou hospitalizaci a ošetřování i zvýšenou morbiditu a mortalitu<sup>5,6</sup>. Virové infekce respiračního traktu u kojenců mohou způsobit obstrukce dýchacích cest a vést k respirační nedostatečnosti.

Mezi hlavní virové původce infekcí dolního dýchacího traktu patří RSV, viry chřipky A a B, virus parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviry. Očekávané prevalence pro jednotlivé viry jsou včetně odkazů na literaturu podrobně uvedeny v Části 13, Očekávané Hodnoty.

Viry RSV a parachřipky působí sezónně a jsou jednou z hlavních příčin onemocnění dolního dýchacího traktu u kojenců a malých dětí. Často způsobují zánět průdušinek, bronchitidu a občas zánět plic<sup>7,8,9</sup>.

Viry chřipky A a B způsobují celosvětové epidemie respiračních onemocnění u dospělých a malých dětí, kdy se závažnost onemocnění pohybuje v rozsahu od mírných příznaků infekce horního dýchacího traktu až po těžký zánět plic<sup>10,11</sup>. Akutní zánět plic u pacientů starých či s oslabenou imunitou může ohrozit život pacienta, zvláště je-li spojen se sekundární mikrobiální infekcí.

Adenovirové infekce jsou spojeny s onemocněními respiračního a zažívacího traktu a zrakového aparátu<sup>12</sup>. Adenoviry jsou podle údajů odpovědné za 5% akutních respiračních onemocnění u dětmiladších 4 let a jsou běžnou příčinou faryngitid u malých dětí<sup>13</sup>.

Rychlá diagnóza virové infekce respiračního traktu výrazně usnadňuje prevenci, léčbu pacientů a nasazení antivirové terapie, zvláště u virů chřipky A a RSV. Navíc umožňuje účinnou kontrolu vzniklé hromadné infekce<sup>3,14,15,16</sup>.

Mezi metody používané k diagnóze akutních virových infekcí respiračního traktu patří přímé testování odebraných vzorků (např. aspirátu z nosohltanu) imunofluorescenčními testy popř. enzymovou imunanalýzou s cílem detekce virových proteinů, a dále izolace a určení viru z jednovrstvéné buněčné kultury či detekce imunitní odpovědi sérologickými metodami.

Imunofluorescenční testy jako např. IMAGEN Respiratory Syncytial Virus and IMAGEN Influenza A and B virus jsou dnes široce používaným nástrojem při přímé detekci proteinů respiračních virů v preprearátech buněk z nosohltanového aspirátu, či z jednovrstvéné buněčné kultury<sup>17,18</sup>. Imunofluorescenční testy využívající specifické monoklonální protilátky jsou rychlé a umožňují sledovat kvalitu vzorku<sup>2,17</sup>. Koncentrace kultivátů odstředěním (tzv. zrychlené kultury či shell vial) urychlují izolaci respiračních virů z buněčné kultury a při kombinaci s imunofluorescenčními testy umožňují rychlou diagnózu respirační infekce pomocí buněčných kultur<sup>19</sup>.

V každé populaci koluje současně celá řada respiračních virů, které mohou způsobovat infekce s podobnými klinickými příznaky. Procento vzorků pozitivních na respirační viry bude kolísat podle populace, ročního období, typu vzorku a času jeho odběru vzhledem k fázi infekce. Imunofluorescenční screening na respirační viry je rychlou a ekonomickou metodou detekce virových infekcí respiračního traktu. Jednotlivé viry lze poté identifikovat a potvrdit pomocí monospecifických monoklonálních protilátek značených FITC.

Test IMAGEN Respiratory Screen je nepřímý imunofluorescenční teste k detekci respiračních virů včetně viru RSV, viru chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru v klinických vzorcích a buněčné kultuře. Přítomnost respiračního viru je indikována pozitivním výsledkem screeningového testu. Jakýkoli přítomný virus lze identifikovat přímým imunofluorescenčním testem pomocí činidla na bázi monoklonální protilátky konjugované s FITC a specifické pro jednotlivé viry (viz Část 6.1 a 11.4).

## 3. PRINCIP TESTU

Test IMAGEN Respiratory Screen obsahuje směs monoklonálních protilátek, z nichž každá je specifická pro jeden z následujících virů: RSV, virus chřipky A či B, virus parachřipky 1, 2 či 3 či adenovirus. Činidlo se směsnou protilátkou se používá ve dvoustupňové metodě na bázi nepřímého imunofluorescenčního barvení. Dodané činidlo pro negativní kontroly slouží k monitorování specifčnosti obarvení. Vzorky jsou barveny po 15 minut ve screeningovém činidle či popř. činidle pro negativní kontroly. Přebytečné nenavázané činidlo je poté odstraněno promytím ve fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku (PBS). Vzorky jsou pak barveny sekundárním konjugátem s FITC po 15 minut. Přebytečné nenavázané činidlo je poté odstraněno promytím v PBS. Zbarvené oblasti jsou fixovány na sklíčku a prohlédnuty mikroskopicky pod epifluorescenčním osvětlením. Pozitivní výsledek je signalizován přítomností charakteristické světle zelené nitrobuněčné fluorescence infikovaných buněk, která kontrastuje s červeně zbarvenými neinfikovanými buňkami. Přítomný respirační virus lze specificky identifikovat pomocí příslušných jednotlivých činidel IMAGEN (viz Část 11.4).

## Poděkování

Monoklonální protilátky použité v tomto testu byly poskytnuty následujícími organizacemi:

The Department of Respiratory and Enteric Viruses, Public Health Services, Centers for Disease Control, Atlanta, USA

The Institute for Research on Animal Diseases, Compton, Berkshire, Velká Británie

The Department for Health and Human Services, Public Health Services, Centers for Disease Control, Atlanta, USA

Division of Microbiological Reagents and Quality Control, Central Public Health Laboratory, Colindale, Londýn, Velká Británie

The Washington Research Foundation, Washington, USA

Přestože některé monoklonální protilátky použité v testu pocházejí z Centers for Disease Control (CDC), neznamená to, že by byl tento test nějakým způsobem podporován CDC či americkým ministerstvem zdravotnictví.

## 4. DEFINICE

V informaci o výrobku byly použity následující symboly.

|                  |                                               |
|------------------|-----------------------------------------------|
| <b>[REF]</b>     | Katalogové číslo                              |
| <b>[IVD]</b>     | Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro |
|                  | Prostudujte návod k použití                   |
|                  | Teplotní omezení (skladovací teplota)         |
| <span>Σ</span> N | Obsah postačuje pro <n> testů                 |
| <b>[LOT]</b>     | Číslo šarže (č. šarže)                        |
|                  | Datum ukončení použitelnosti (datum expirace) |
|                  | Výrobce                                       |

## 5. POSKYTNUTÁ ČINIDLA

Σ100 – Každý kit obsahuje dostatečnémnožství materiálu k testování 100 přímo odebíraných vzorků či preparátů z buněčných kultur. Exspirace kitu je uvedena na etiketě vnější krabice.

## 5.1. ČINIDLO IMAGEN RESPIRATORY SCREEN

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Návod k použití.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|  | 5 x 14 jamek, kombinovaná sklíčka pro pozitivní i negativní kontrolu. Každé sklíčko má 7 jamek obsahujících acetone <span></span> m fixované buňky infikované buď virem RSV (kmen z klinických vzorků), chřipkou A (kmen CDC V7-002) či B (kmen CDC V4-004), virem parachřipky 1, 2 či 3 (kmeny CDC V6-004, CDC V7-003, a V5- 003) a adenovirem (kmen CDC V5-002), jedna jamka je vždy specifická pro jeden virus) a 7 jamek obsahujících acetone <span></span> m fixované neinfikované buňky (jamky s negativní kontrolou). |

Po jedné lahvičce následujících činidel, pokud není uvedeno jinak:

|                         |                                                                                                                                                   |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>[MOUNTING FLUID]</b> | 3 x 3mL kapaliny pro fixaci mikroskopického preparátu. Kapalina obsahuje inhibitor blednutí účinkem světla (fotobleaching) v glycerolu (pH 10,0). |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>[SCREENING REAGENT]</b> | 4,4mL testovacího činidla. Činidlo se skládá ze směsi purifikovaných myších monoklonálních protilátek specifických pro RSV, virus chřipky A a B, virus parachřipky 1, 2 a 3 a adenovirus. Činidlo je dodáváno v pufovaném roztoku stabilizovaném proteinem a obsahujícím 15mmol/L azidu sodného jako konzervační látku. |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Monoklonální protilátky použité v testovacím činidle průkazně reagují s konzervovanými epitopy virových proteinů jednotlivých virů, a to takto:

| Virus               | Specifičnost monoklonální protilátky |
|---------------------|--------------------------------------|
| virus RSV           | nukleoprotein a fúzní protein        |
| virus chřipky A     | nukleoprotein a protein matrix       |
| virus chřipky B     | nukleoprotein a hemaglutinin         |
| virus parachřipky 1 | fúzní protein                        |
| virus parachřipky 2 | hemaglutinin                         |
| virus parachřipky 3 | hemaglutinin                         |
| adenovirus          | hexon protein*                       |

\*Jak bylo prokázáno, tato monoklonální protilátka zjišťuje všechny kmeny adenoviru běžně spojované s infekcemi dýchacího ústrojí. Testovány byly adenovirové kmeny 1-41.

|                    |                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>[CONTROL –]</b> | 2,6mL činidla pro negativní kontrolu. Činidlo se skládá ze směsi myších monoklonálních protilátek bez antivirové aktivity. Činidlo je dodáváno v pufovaném roztoku stabilizovaném proteinem a obsahujícím 15mmol/L azidu sodného jako konzervační látku. |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>[FITC CONJUGATE]</b> | 2 x 3, 5mL protilátky proti myší protilátce konjugované s FITC. Činidlo se skládá z fragmentů F(ab') <sub>2</sub> králíčích imunoglobulinů proti myším protilátkám. Fragmenty jsou konjugovány s FITC, naředěny ve PBS obsahující proteinový stabilizátor, Evansovu modř jako kontrastní barvivo a 15mmol/L azidu sodného jako konzervační látku. |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## 5.2. PŘÍPRAVA, UCHOVÁVÁNÍ A OPAKOVANÉ POUŽITÍ SOUČÁSTÍ KITU

K optimálnímu fungování kitu je nutné skladovat jeho nespotřebované součásti podle následujících pokynů:

**5.3. SKLÍČKA S POZITIVNÍ KONTROLOU –**   
Sklíčka jsou dodávána zabalená individuálně v zavařeně fólii pod dusíkovou atmosférou. Nespotřebovaná sklíčka uchovávejte při 2-8°C. Před otevřením sklíčka ponechte v obalu 5 minut při pokojové teplotě (15-30°C).

**Okamžitě po otevření sklíčka obarvěte.**

**5.4. KAPALINA PRO FIXACI MIKROSKOPICKÉHO PREPARÁTU –**

Připraveno k použití. Nespotřebovanou kapalinu uchovávejte při 2-8°C. Před použitím ponechte 5 minut při pokojové teplotě (15-30°C).

**5.5. TESTOVACÍ ČINIDLO –**   
Připraveno k použití. Nespotřebovanou kapalinu uchovávejte při 2-8°C. Před použitím ponechte 5 minut při pokojové teplotě (15-30°C).

**5.6. ČINIDLO PRO NEGATIVNÍ KONTROLU –**   
Připraveno k použití. Nespotřebovanou kapalinu uchovávejte při 2-8°C. Před použitím ponechte 5 minut při pokojové teplotě (15-30°C).

**5.7. ČINIDLO S PROTILÁTKOU PROTI MYŠÍ PROTILÁTCE KONJUGOVANÉ S FITC –**

Připraveno k použití. Nespotřebované činidlo uchovávejte v temnu při 2-8°C. Před použitím ponechte 5 minut při pokojové teplotě (15-30°C).

## 6. DALŠÍ POTŘEBNÁ ČINIDLA A ZAŘÍZENÍ

## 6.1. ČINIDLA

Čerstvý aceton (k fixaci).

Fosfátem PBS pH 7,5 k promývání obarvených vzorků a jejich přípravu.

Činidla IMAGEN k potvrzení pozitivních výsledků screeningu. Jsou k dispozici u místní pobočky či distributora firmy Oxoid:

|                                                 |               |
|-------------------------------------------------|---------------|
| IMAGEN Adenovirus                               | kód K610011-2 |
| IMAGEN Respiratory Syncytial Virus (RSV)        | kód K610211-2 |
| IMAGEN Parainfluenza Virus Types 1,2,3 (Typing) | kód K610411-2 |
| IMAGEN Influenza A and B Virus                  | kód K610511-2 |

## 6.2. PŘÍSLUŠENSTVÍ A ZAŘÍZENÍ

Následující výrobky jsou určeny k použití v kombinaci s kitem IMAGEN Respiratory Screen. Další informace získáte u místní distributora.

Teflonem potažená mikroskopická sklíčka s jednou jamkou o průměru 6mm (100 sklíček na krabici). Jsou k dispozici u místní distributora (kód S611430-6).

IMAGEN Respiratory Screen Positive and Negative Control Slides (kód S612130-2).

## 7. ZAŘÍZENÍ

Budete potřebovat následující zařízení:

Přesná pipeta a jednorázové špičky schopné odměřit 20μL a 25μL

Promývací lázeň

Krycí sklíčka vhodná k zakrytí podložních sklíček s jedinou 6mm jamkou či se 14 jamkami

Imerzní olej, který nemá vlastní fluorescenci

Epifluorescenční mikroskop s filtrem pro FITC (maximální excitační vlnová délka 490nm, střední emisní vlnová délka 520nm) a zvětšením 200-500x

Inkubátor schopný udržovat teplotu 37°C

Nízkootáčková odstředivka

**Pro přímo odebírané vzorky**

Odsávačka hlenů (pouze pro vzorky z nosohltanu).

**Pro potvrzení izolátů z kultury**

Sterilní stěrové tampóny, virové přepravní médium (VTM) a nádoba vhodná k odběru, přepravě a kultivaci virů RSV, viru chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru.

Buněčné linie doporučené ke kultivaci a izolaci viru RSV, chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru.

## 8. UPOZORNĚNÍ

**[IVD]** - *In vitro* diagnostikum. Osoby, provádějící test s tímto výrobkem musí být v jeho použití vyškoleny a musí mít zkušenosti s prací v laboratoři.

## 8.1. Bezpečnostní pokyny

8.1.1 Činidla IMAGEN Respiratory Screen obsahují <0.1% azidu sodného, což je jedovatá látka. Azid sodný může reagovat s olověnými a měděnými armaturami a vytvářet vysoce výbušné kovové azidy. Materiály obsahující azid vždy spláchněte velkýmmnožstvím vody.

8.1.2 Virové antigeny na sklíčku s kontrolou jsou při izolaci z buněčné kultury neinfekční, zacházejte však se sklíčky jako s potenciálně infekčním materiálem a stejně jej i zlikvidujte.

8.1.3 Evansova modř je přítomna v činidle. Přestože je koncentrace v produktu nižší než taková, která je klasifikována jako karcinogenní, je třeba zamezit kontaktu s pokožkou.

8.1.4 Při práci s kapalinou pro přípravu trvalých mikroskopických preparátů postupujte opatrně; může způsobit podráždění pokožky. Při kontaktu pokožku opláchněte vodou.

8.1.5 Ve vyhrazeném pracovním prostoru nejezte, nepijte, nekuřte, neskladujte nebo nepřipravujte jídlo a neaplikujte osobní kosmetiku.

8.1.6 Nenasávejte materiál do pipety ústy.

8.1.7 Při manipulaci s klinickými vzorky a virovou kulturou používejte jednorázové rukavice a po práci s infekčním materiálem si vždy umyjte ruce.

8.1.8 Veškeré klinické vzorky zlikvidujte v souladu s místními předpisy.

8.1.9 Bezpečnostní list je profesionálním uživatelům k dispozici na požádání.

## 8.2. TECHNICKÉ POKYNY

8.2.1 Nepoužívejte komponenty po datu expirace vytištěném na štítcích. Nemichejte a nezaměňujte různé šarže činidel.

8.2.2 Činidla jsou dodávána v pevných pracovních koncentracích. Modifikování činidel a jejich uchovávání v jiných podmínkách než uvedených v bodě 5 bude mít nepříznivý dopad na funkčnost testu.

8.2.3 Čerstvý PBS připravte podle potřeby vždy v den použití.

8.2.4 Promývání v PBS je nezbytnou součástí metody. Použití jiného promývacího roztoku (např. vodovodní či destilované vody) negativně ovlivní výsledek testu.

8.2.5 Zamezte mikrobiální kontaminaci činidel.

8.2.6 Činidla nesmí být zmrazena.

## 9. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Odběr a příprava vzorků je při diagnostice respiračních virových infekcí přímými imunofluorescenčními testy a z buněčné kultury maximálně důležitá. Vzorky musí být z místa infekce odebrány v době, kdy uvolňování virových částic vrcholí, aby obsahovaly co nejvíce infikovaného materiálu. K přímému mikroskopickému posouzení je připravte tak, aby preparát obsahoval nepoškozené buňky očištěné od hlenu, ke kultivaci v kultuře zajistěte, aby byly viry ve vzorku životaschopné.

## 9.1. SEKRECE A VZORKY ODSÁVÁNÉ Z NOSOHLTANU

## Odběr

Vzorky z nosohltanové oblasti odebírejte odsávačkou a trubičkou o velikosti 8. Odsávačku hlenů a trubičku uchovávejte při 2-8°C a odešlete co nejdříve do laboratoře ke zpracování. Separace buněk je při přímém imunofluorescenčním barvení vzorků nezbytná. Vzorek či supernatant ze separace lze použít k inkulaci viru do kultury.

## Separace buněk

V případě potřeby před odstředěním ke vzorku přidejte 2mL PBS, čímž snížíte viskozitu a naředíte hlen. Odsávačku hlenů odstředějte při pokojové teplotě (15-30°C) po 15 minut při 380g. Odeberte supernatant, který lze použít pro kultivaci v buněčné kultuře. Buňky rozpustěte v 2mL PBS a jemně buňky několikrát nasajte do pipety se širokým ústím nebo jemně rozmíchejte míchačkou, až rozrušíte hlen a uvolníte buněčný materiál. Zamezte prudkému pipetování a míchání, abyste předešli poškození buněk. Jakmile je suspenze hladká, přidejte podle potřeby další PBS, a rozmíchejte míchačkou či pipetou, abyste buňky důkladněji promyli. Odstraňte a zlikvidujte viditelné shluky hlenu, které ještě zbývají. Přebytečný hlen musí být odstraněn, protože by bránil přiměřené penetraci činidla a mohl způsobit nespecifickou fluorescenci. Pokud veškerý sekret zůstane v přívodní hadičce a nepronikne do

odsávačky, vypláchnete sekret z hadičky do PBS. Doporučujeme vypláchnutí provést pasteurovou pipetou, kterou zasunete do odsávací hadičky. Natáhnete do hadičky přiměřenémnožství tekutiny a opakovaně ji vytlačte, dokud neuvolníte sekret přichycený na stěny hadičky. Nasávejte suspenzi pipetou a zase vypouštějte, až se hlen přiměřeně rozruší.

## Příprava sklíček

Po dokončení separace buněk odstředte výslednou buněčnou suspenzi při pokojové teplotě (15-30°C) po 10 minut při 380g a zlikvidujte supernatant. Rozpusťte peletu buněk v dostatečnémmnožství PBS a naředte tak zbývající hlen, dbejte však, abyste zbytečně nerozředili buňky. 25μL rozpuštěné buněčné suspenze přeneste do jamky (jamek) na sklíčku.

**POZNÁMKA: Doporučujeme každý zkoumaný vzorek připravit v duplikátu, a na jednu jamku aplikovat testovací činidlo a na druhou činidlo pro negativní kontrolu (viz část 10.8).**

Nechte vzorek důkladně zaschnout při pokojové teplotě (15-30°C) a poté fixujte v čerstvém acetonu při pokojové teplotě (15-30°C) po 10 minut. Pokud vzorek nebudete okamžitě barvit, skladujte jej při 4°C přes noc, nebo při -20°C po delší období.

**POZNÁMKA: Chcete-li provést následný test k identifikaci konkrétního viru, přidejte na každý vzorek další sklíčko obsahující nejméně 8 jamek (viz Část 11.4).**

## 9.2. INOKULACE BUNĚČNÉ KULTURY

## Inokulace buněčné kultury

Vzorky odebrané k diagnóze viru RSV, viru chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru naočkujte do buněčných linií, které jsou ve vaší laboratoři běžně používány, a to podle vašich zavedených metod. Buněčné kultury pravidelně kontrolujte na výskyt cytopatického efektu (CPE) a v pravidelných intervalech provádějte hemadsorpční testy. U kultur vykazujících pozitivní hemadsorpční test či CPE lze kultivaci ukončit a u buněk lze provést test na virus RSV, chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru.

## Příprava sklíček

Buňky seškrábejte sterilní pipetou do tekutého kultivačního média. Buňky odstředte při 200g po 10 minut při pokojové teplotě (15-30°C) a odstraňte supernatant.

Promyjte buňky opětovným rozpuštěním v PBS. (viz Část 6.1) a odstředěním opakujte. Odstraňte supernatant a buňky rozpustěte v malém objemu čerstvého PBS (250μL na zkušavku s kulturou).

Přeneste 25μL alikvotů buněčné suspenze do příslušného počtu jamek na sklíčkách. Nechte vzorek na vzduchu důkladně zaschnout a poté fixujte v čerstvém acetonu při pokojové teplotě (15-30°C) po 10 minut). Pokud vzorek nebudete okamžitě barvit, skladujte jej při 4°C přes noc, nebo při -20°C po delší období.

**POZNÁMKA: Doporučujeme každý zkoumaný vzorek připravit v duplikátu, a na jednu jamku aplikovat testovací činidlo a na druhou činidlo pro negativní kontrolu (viz Část 10.8).**

**POZNÁMKA: Chcete-li provést následný test k identifikaci konkrétního viru, přidejte na každý vzorek další sklíčko obsahující nejméně 8 jamek (viz Část 11.4).**

## 10. POSTUP TESTU

**PŘED PROVÁDĚNÍM TESTU SI PROSTUDUJTE KAPITOLU 8.2 TECHNICKÉ POKYNY.**

**10.1. PŘIDÁNÍ TESTOVACÍHO ČINIDLA A ČINIDLA PRO NEGATIVNÍ KONTROLU**

Pro každý vzorek potřebujete dvě jamky s fixovaným buněčným preparátem. Do jedné jamky na testovacím sklíčku přidejte 25μL testovacího činidla a do druhé 25μL činidla pro negativní kontrolu. Do každé jamky kontrolního sklíčka přidejte 20μL testovacího činidla. Zajistěte, aby činidla pokrývala celou plochu jamek.

## 10.2. PRVNÍ INKUBACE

Sklíčka s činidlem inkubujte ve **vlhké komůrce po 15 minut při 37°C. Nenechte** činidlo na vzorku zaschnout; došlo by k nespecifickému obarvení.

## 10.3. PROMÝVÁNÍ OSOBNÍ SKLÍČKA

Opatrně opláchněte pomocí PBS stisknutím mycí láhve . Nemiřte proudem PBS přímo na jamky. Skloňte sklíčko dolů a pusťte proud PBS na sklíčko nad jamkami tak, aby PBS stékalo z dolního kraje sklíčka. Jemně promývejte sklíčko v míchací lázni s obsahem PBS po dobu 5 minut. Vypusťte PBS a nechte sklíčko oschnout při pokojové teplotě (15-30 °C).

**10.4. PŘIDÁNÍ PROTILÁTKY PROTI MYŠÍ PROTILÁTCE KONJUGOVANÉ S FITC**

Přidejte 25μL činidla s FITC do

Obarvené infikované buňky vykazují světle zelenou fluorescenci v jádře popř. cytoplasmě. Neinfikované buňky budou zbarveny červeně kontrastním barvivem (Evansova modř).

#### 11.2.2 Interpretace

Pozitivní diagnóza odpovídá situaci, kdy jedna či více buněk ve fixovaném a zbarveném vzorku vykazuje typickou fluorescenci popsanou v Části 11.2.1.

Negativní diagnóza odpovídá situaci, kdy fixované a obarvené vzorky nevykazují fluorescenci v reakci s testovacím činidlem.

U přímo obarvených aspirátů z nosohltanu zjistíte před stanovením negativní diagnózy nejméně 20 neinfikovaných epiteliliálních (cylindrických) buněk respiračního traktu. Není-li počet buněk dostatečný, viz část 11.2.3.

#### 11.2.3 Nedostatečný počet buněk

Pokud na sklíčku není dostatečný počet buněk, odstředte zbytek klinického vzorku při 380g po 10 minut při pokojové teplotě (15-30°C). Buňky rozpusťte v menším objemu PBS (cca 50μL) a poté je napipetujte (po 25μL) do jamek. Alternativně by se mělo požádat o nový klinický vzorek.

#### 11.2.4 Kvalitativní kontrola

Při každém použití činidel IMAGEN Respiratory Screen obarvěte a zkontrolujte i sklíčka s pozitivní a negativní kontrolou.

Kontrolní sklíčka poskytnutá s kitem slouží jako vhodná kontrola k ověření správného fungování metody barvení a reaktivity činidla u buněk infikovaných viry RSV, chřipky A a B, parachřipky 1, 2 či 3 a adenoviru.

#### 11.2.5 Hlášení výsledků

Při hlášení výsledků doporučujeme používat následující formulace:

Pozitivní výsledky definované v bodě 11.2.2:

Předpokládáně pozitivní na jeden či více z těchto virů: RSV, viru chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru. Informace o izolátech z kultury a upřesnění viru viz níže. Informace o upřesnění viru viz Část 11.4

Negativní výsledky definované v bodě 11.2.2:

Předpokládáně negativní na viru RSV, viry chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenovirus. Potvrzení výsledku na izolátech z kultury bude provedeno

#### 11.3. POTVRZENÍ VÝSLEDKU POMOCÍ BUNĚČNÉ KULTURY

#### 11.3.1 Vzhled buněk infikovaných chřipkovým virem

Infikované buňky vykáží nitrobuměčnou, nukleární popř. cytoplasmickou světle zelenou fluorescenci v buňkách, což znamená pozitivní výsledek testu. Neinfikované buňky budou zbarveny červeně kontrastním barvivem (Evansova modř).

#### 11.3.2 Interpretace výsledků

Pozitivní diagnóza odpovídá situaci, kdy nejméně jedna z fixovaných a obarvených buněk vykazuje typickou fluorescenci popsanou v Část 11.3.1.

Negativní diagnóza odpovídá situaci, kdy fixované a obarvené vzorky nevykazují po obarvení činidly fluorescenci.

V každé jamce sklíčka musí být viditelných nejméně 50 neinfikovaných buněk testované kultury, jinak nelze stanovit negativní výsledek. Není-li počet buněk dostatečný, viz Část 11.3.4.

#### 11.3.3 Hlášení výsledků

Při hlášení výsledků doporučujeme se řídit následujícími pokyny.

Pozitivní výsledky definované v bodě 11.3.2:

Pozitivní na jeden či více virů: RSV, viru chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenoviru. Upřesnění viru viz níže. Informace o upřesnění viru viz Část 11.4.

Negativní, tak jak definováno v 11.3.2:

Negativní na virus RSV, viry chřipky A a B, parachřipky 1, 2 a 3 a adenovirus.

#### 11.3.4 Nedostatečný počet buněk

Pokud v preparátu na sklíčku není dostatečný počet buněk, odstředte zbytek vzorku z kultury při 200g po 10 minut při pokojové teplotě (15-30°C). Buňky rozpusťte v menším objemu PBS (cca 50μL) a poté je napipetujte (po 25μL) do jamek.

Alternativně vzorek znovu naočkujte do čerstvé jednovrstevné buněčné kultury a kultivaci viru opakujte.

#### 11.4. UPŘESNĚNÍ RESPIRAČNÍHO VIRU

Upřesnění respiračního viru lze provést potvrzením pozitivního výsledku pomocí přímého imunofluorescenčního testu IMAGEN (viz Část 6.1, příprava sklíček viz Část 9).

| 12. OMEZENÍ TESTU |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12.1.             | Používejte pouze dodanou kapalinu pro fixaci mikroskopického preparátu.                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 12.2.             | Přestože byly monoklonální protilátky použité v tomto testu vytvořeny proti prototypovým kmenům a vybrány na základě žádoucí reaktivity s konzervovaným epitopem, nemusí zjistit virové kmeny, u nichž došlo k variaci antigenní struktury cílového epitopu či u nových kmenů téhož viru.                                                                              |
| 12.3.             | Testovací činidlo a činidlo pro negativní kontrolu mohou nespecificky barvit některé kmeny bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> , obsahující protein A. Příčinou je neimunitní interakce mezi proteinem A a oblastí Fc monoklonálních protilátek. Tento jev byl hlášen u jiných fluorescenčních analýz s monoklonálními a polyklonálními protilátkami <sup>20</sup> . |
| 12.4.             | Vizuální vzhled fluorescence může kolísat podle typu použitého mikroskopu a světelného zdroje.                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 12.5.             | U jamek s průměrem 6mm doporučujeme k pokrytí použít 25μL činidla. Menší objem činidla nemusí dostatečně pokrýt plochu se vzorkem a snížit tak citlivost testu.                                                                                                                                                                                                        |
| 12.6.             | Všechna činidla jsou dodávána v pevných pracovních koncentracích. Jakékoli modifikace činidel či skladování v jiných než doporučených podmínkách bude mít dopad na účinnost testu tak jak je uvedeno v části 5.                                                                                                                                                        |
| 12.7.             | Test IMAGEN Respiratory Screen nelze použít k určení specifického respiračního viru. K upřesnění viru pozitivní vzorky dále testujte pomocí jednotlivých činidel IMAGEN pro přímé imunofluorescenční testy (viz Část 6).                                                                                                                                               |
| 12.8.             | Nezjištění viru přímými testy či potvrzením v buněčné kultuře může být následkem např. nesprávného odběru vzorků v nevhodné fázi onemocnění, nesprávného postupu při odběru popř. manipulace se vzorky, špatné buněčné kultury atd. Negativní výsledek nevylučuje možnost virové infekce.                                                                              |
| 12.9.             | Výsledky testu interpretujte s přihlédnutím k informacím z epidemiologických studií, celkového klinického zhodnocení pacienta a jiných diagnostických postupů či metod.                                                                                                                                                                                                |
| 12.10.            | V souvislosti s výrobou kontrolních sklíček může občas dojít k náhodnému pomíchání materiálu (tj. několik pozitivních buněk v negativních jamkách). Sklíčko bude nadále sloužit jako vhodná kontrola pro určení správné funkce barvicí techniky a reaktivity činidla s RSV, virem influenzy A a B, parainfluenzy 1, 2 a 3 a adenovirem v infikovaných buňkách.         |

#### 12.11. ČEKÁVÁNÉ HODNOTY

Výskyt respiračních virů je ovlivněn zeměpisnou polohou, klimatem a sezónou, ale také demografickými faktory jako např. přelidnění, sociálně ekonomickou situací a výživou populace. Kromě toho mohou úspěšnost přímé diagnostiky ovlivnit faktory jako typ zkoumaných vzorků, čas odběru vzhledem ke stádiu infekce, manipulace a uchovávání vzorků, včetně postupů použitých k přípravě stěrů.

Obecně vzato se respirační viry vyskytují po celém světě a mohou způsobit sporadické infekce, malá ohniska výskytu, epidemie či občasné pandemie při výskytu antigenně nových forem viru. Přes sezónní výskyt virových infekcí respiračního traktu je možné, že ani během hlavního období výskytu nebudou viry např. parachřipky 1 a 2 a chřipky B izolovány či zjištěny vzhledem k nízké prevalenci.

**Virus RSV** je v sezóně spojen s významným výskytem ohnisek infekcí horního a dolního dýchacího traktu. Nejvíce jsou ohroženi jsou kojenci v prvních šesti měsících života a skupiny s oslabenou imunitou. Zkušenost s infekcí RSV zažije v prvním roce života cca 50% všech kojenců<sup>21</sup>. Virus RSV může během vrcholné sezóny způsobovat asi 20% všech infekcí horních cest dýchacích<sup>21</sup>.

**Virus chřipky A a B** může způsobit hromadné infekce. Četnost infekcí chřipkou A je ovlivněna hlavně imunitním stavem populace vzhledem k aktuálně přítomným kmenům. Při vysoké imunitě populace může chřipka způsobovat 15% infekcí horních cest dýchacích, při výskytu nových kmenů však může být příčinou více než 50% všech těchto infekcí<sup>22</sup>.

U chřipky B je obvykle nejvyšší výskyt hlášen u dětí školního věku<sup>23</sup>.

Adenoviry mohou být podle údajů odpovědné za 5% akutních respiračních onemocnění u dětímladších 4 let a 10% všech respiračních infekcí u hospitalizovaných dětí<sup>12</sup>. Adenoviry jsou někdy příčinou malých lokalizovaných epidemii akutních respiračních onemocnění umLadých dospělých, zvláště pokud tito žijí v uzavřených prostorách.

Virus parachřipky způsobuje až 20% infekcí dýchacího ústrojí u kojenců a malých dětí (ve věku 2-4 roky), které mohou trpět těžkými příznaky včetně laryngotracheobronchitidy<sup>24</sup>. K hromadné infekci, zvláště virem parachřipky 3, může dojít u starších dětí a dospělých. Více než 90% kojenců prodělá infekci virem parachřipky v raném věku a běžně jsou i symptomatické reinfekce<sup>8</sup>. K hromadným infekcím způsobeným virem parachřipky 3 může dojít během jarních a letních měsíců.

Přímá detekce respiračních virů v epiteliliálních buňkách respiračního traktu poskytuje rychlé a klinicky relevantní diagnostické informace v situacích, kdy úspěšné diagnóze brání nemožnost získání životaschopného viru či technická nemožnost zajistit kultivaci.

V průběhu zimy 1994-95, byly ve třech nemocničních laboratořích provádějících klinické zkoušky zaznamenány následující prevalence.

V dětské nemocnici na západě amerického státu New York byl virus RSV identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích ve 43,6% (478/1096) vzorků odebraných z respiračního traktu, chřipkový A byl identifikován imunofluorescencí u 3,1% (34/1096) přímých vzorků a izolátů z buněčné kultury, zatímco chřipka B byla identifikována přímou imunofluorescencí a testem izolátů z kultury v 1,1% (12/1096) vzorků z respiračního traktu. Adenovirus byl identifikován v izolátech z buněčné kultury ve 4,4% (39/883) vzorků odebraných z respiračního traktu a virus parachřipky byl identifikován v izolátech z buněčné kultury ve 2,9% (26/883) vzorků odebraných z respiračního traktu (včetně 2 vzorků obsahující virus parachřipky 1, tři obsahujících virus parachřipky 2 a 21 obsahujících virus parachřipky 3).

V nemocnici na severovýchodě Velké Británie byl virus RSV u smíšené patientské populace identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích ve 49,68% (467/940) vzorků odebraných z respiračního traktu. Chřipkový B byl identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích či izolátech z buněčné kultury v 1,7% (16/940) vzorků odebraných z respiračního traktu. Adenovirus byl identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích či izolátech z buněčné kultury v 1,17% (11/940) vzorků odebraných z respiračního traktu. Virus parachřipky 1 byl identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích či izolátech z buněčné kultury v 0,1% (1/940) vzorků odebraných z respiračního traktu.

V nemocnici na jihozápadě Velké Británie byl virus RSV u smíšené patientské populace identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích ve 10,6% (195/1840) vzorků odebraných z respiračního traktu. Chřipkový B byl identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích či izolátech z buněčné kultury v 3,04% (56/1840) vzorků odebraných z respiračního traktu. Adenovirus byl identifikován v izolátech z buněčné kultury ve 1,2% (22/1840) vzorků odebraných z respiračního traktu a virus parachřipky byl identifikován imunofluorescenčním testem na přímých vzorcích nebo izolátech z buněčné kultury ve 1,14% (21/1840) vzorků odebraných z respiračního traktu. Kromě výše uvedených byly ze vzorků odebraných z respiračního traktu izolovány i následující viry: picornavirus 1% (18/1840), cytomegalovirus 0,38% (7/1840), rhinovirus 1,7% (32/1840) Herpes simplex virus typu 1 u 1,03% (19/1840) a Herpes simplex virus 2 u 0,5% (1/1840).

#### 13. SPECIFIČNOST TESTU

#### 13.1. KLINICKÉ STUDIE

Test IMAGEN Respiratory Screen byl hodnocen při přímém použití ve dvou testujících centrech ve Velké Británii: jedno bylo umístěno na severovýchodě země, druhé pak na jihozápadě, a jedno centrum se nacházelo v americkém státě New York. Test byl prováděn na vzorcích z respiračního traktu odebraných od dětí a dospělých hospitalizovaných s příznaky respirační infekce. U testu byla také hodnocena detekce virového antigenu v buněčných kulturách inokulovaných vzorky z respiračního traktu. Klinické vzorky byly odebírány od zimy 1994 do jara 1996 a centra porovnávala test IMAGEN Respiratory Screen s používanými standardními metodami a komerčním nepřímým imunofluorescenčním testem, jehož součástí bylo testovací činidlo a jednotlivá typizační činidla. K hodnocení byly použity čerstvé klinické a dříve zmrazené vzorky a navíc i starší zmrazené vzorky z období 1993-94.

Centra prováděla přímé testy 343 klinických vzorků a 87 vzorků na potvrzení výsledků s kultiváty z buněčných kultur. U přímo odebíraných vzorků byl test IMAGEN Respiratory Screen hodnocen v porovnání s komerčně dostupným nepřímým imunofluorescenčním screeningovým testem a virovou kulturou. U vzorků z buněčných kultur byl test IMAGEN Respiratory Screen hodnocen v porovnání s komerčně dostupným nepřímým imunofluorescenčním screeningovým testem a buď inhibicí hemadsorpce, virovou neutralizací či přímým imunofluorescenčním testem.

#### LINICKÁ ÚČINNOST

#### 13.1.1 Přímé vzorky

Ve třech centrech bylo hodnoceno 343 aspirátů z nosohltanu.

Výsledky vzorků:

|     |                                           |
|-----|-------------------------------------------|
| 144 | vzorků pozitivních na RSV                 |
| 11  | vzorků pozitivních na chřipku A           |
| 5   | vzorků pozitivních na chřipku B           |
| 19  | vzorků pozitivních na virus parachřipky 1 |
| 4   | vzorky pozitivních na virus parachřipky 2 |
| 26  | vzorků pozitivních na virus parachřipky 3 |
| 8   | vzorků pozitivních na adenovirus          |
| 141 | negativních vzorků                        |
| 5   | vzorků s koinfekcemi:                     |
| 2   | koinfekce RSV a parachřipky 1             |
| 1   | koinfekce RSV a adenoviru                 |
| 1   | koinfekce adenoviru a chřipky B           |
| 1   | koinfekce adenoviru a parachřipky 3       |

Tabulka 14.2.1 zachycuje srovnání výsledků testu IMAGEN Respiratory Screen a komerčního nepřímého imunofluorescenčního screeningového testu při izolaci virů u přímých vzorků z respiračního traktu. Mezi testem IMAGEN a porovnávanou standardní metodou byla zjištěna korelace 94,1% (317/337). Výsledek testu citlivosti byl 96,7% (205/212) v porovnání s izolovaným virem.

#### Tabulka 14.2.1 Srovnání výsledků testu IMAGEN Respiratory Screen a komerčního nepřímého imunofluorescenčního screeningového testu na virových izolátech z přímých vzorků z respiračního traktu.

|                            |   | IMAGEN Respiratory Screen |                | Komerční test IIF |                |
|----------------------------|---|---------------------------|----------------|-------------------|----------------|
|                            |   | +                         | -              | +                 | -              |
| Virový izolát <sup>a</sup> | + | 205                       | 7 <sup>c</sup> | 207               | 5 <sup>c</sup> |
|                            | - | 13 <sup>b</sup>           | 112            | 15 <sup>d</sup>   | 110            |
| Relativní citlivost%       |   | 96,7 (205/212)            |                | 97,6 (207/212)    |                |
| Interval spolehlivosti 95% |   | (94-99%)                  |                | (95-100%)         |                |
| Relativní specifčnost%     |   | 89,6 (112/125)            |                | 88,0 (110/125)    |                |
| Interval spolehlivosti 95% |   | (83-94%)                  |                | (81-93%)          |                |
| Korelace%                  |   | 94,1 (317/337)            |                | 94,1 (317/337)    |                |
| Interval spolehlivosti 95% |   | (91-97%)                  |                | (91-97%)          |                |

- Izolace viru byla prováděna z buněčných linií Hep-2, A549, primárních ledvinových buněk makaka, MK, HEL, RK13 či G293 a byla potvrzena specifickým nepřímým imunofluorescenčním testem a inhibicí hemadsorpce, virovou neutralizací či přímým imunofluorescenčním testem.
- Třináct vzorků bylo také shledáno pozitivními přímým vyšetřením vzorků pomocí jak testu IMAGEN, tak i komerčně dostupných typizačních testů (viz tabulka 14.2.4), a to takto:

RSV

7

Chřipka A

3

Parachřipka 1

1

Adenovirus

2
- Dva vzorky byly pozitivní na adenovirus; dva na parachřipku 2; tři na parachřipku 3 (viz tabulka 14.2.4).
- Patnáct vzorků, a to třináct zroepsaných v poznámce <sup>b</sup> a dva jiné vzorky, pozitivní pouze při vyšetření komerčním testem IIF (viz tabulka 14.2.4)
- Pět vzorků bylo hodnoceno jako negativní komerčním testem IIF: jeden chřipky A, dva virus parachřipky 2, jeden virus parachřipky 3 a jeden adenovirus (viz tabulka 14.2.4)

Tabulka 14.2 zachycuje srovnání testu IMAGEN Respiratory Screen a komerčního nepřímého imunofluorescenčního screeningového testu při vyšetění aspirátů z nosohltanu, a to ve všech Centrech zapojených do studie. V Centrech 1 a 2 byly zkoumány vzorky zmrazené (s výjimkou sedmi vzorků v Centru 2). V Centru 3 bylo zkoumáno 121 čerstvých vzorků, a to do 24 hodin po odběru, a 68 zkoumaných vzorků bylo před testem zmrazeno.

#### Tabulka 14.2.2 Srovnání testu IMAGEN Respiratory Screen a komerčního nepřímého imunofluorescenčního screeningového testu (Bartels VRK) při vyšetření vzorků z respiračního traktu

|                                                            |                                    | Komerční test IIF |                |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------|----------------|
|                                                            |                                    | +                 | -              |
| <b>Centrum 1 (jihozápad Velké Británie) n= 74</b>          | <b>IMAGEN Respiratory + Screen</b> | 49                | 0              |
|                                                            | -                                  | 0                 | 25             |
| <b>C e n t r u m 2 (severovýchod Velké Británie) n= 80</b> | <b>IMAGEN Respiratory + Screen</b> | 46                | 0              |
|                                                            | -                                  | 4 <sup>b</sup>    | 30             |
| <b>Centrum 3 (stát New York, USA) n= 189</b>               | <b>IMAGEN Respiratory + Screen</b> | 126               | 1 <sup>f</sup> |
|                                                            | -                                  | 1 <sup>g</sup>    | 61             |

- Jeden vzorek z kultury pozitivní na chřipku A byl také typován pomocí činidla IMAGEN Influenza A, a to jak na přímých vzorcích, tak vzorku z kultury
- Včetně jednoho vzorku z Centra 2 a jednoho z Centra 3, posouzených jako pozitivní pouze komerčním screeningovým testem IIF.

Tabulka 14.2.3 zachycuje souhrnné údaje ze všech tří center s porovnáním testu IMAGEN Respiratory Screen s komerčním nepřímým imunofluorescenčním screeningovým testem při vyšetění aspirátů z nosohltanu.

#### Tabulka 14.2.3 Souhrnné srovnání testu IMAGEN Respiratory Screen a komerčního nepřímého imunofluorescenčního screeningového testu (Bartels VRK) při vyšetření vzorků z respiračního traktu

|                                  |          | Komerční test IIF |                |
|----------------------------------|----------|-------------------|----------------|
|                                  |          | +                 | -              |
| <b>IMAGEN Respiratory Screen</b> | <b>+</b> | 221               | 1 <sup>f</sup> |
|                                  | <b>-</b> | 5 <sup>g</sup>    | 116            |
| Relativní citlivost              |          | 97,8% (221/226)   |                |
| Interval spolehlivosti 95%       |          | (95-99%)          |                |
| Relativní specifičnost           |          | 99,1% (116/117)   |                |
| Interval spolehlivosti 95%       |          | (95-100%)         |                |
| Korelace%                        |          | 98,3% (337/343)   |                |
| Interval spolehlivosti 95%       |          | (96-99%)          |                |

- Jeden vzorek z kultury pozitivní na chřipku A, který byl také typován pomocí činidla IMAGEN Influenza A, a to jak na přímých vzorcích, tak vzorku z kultury.
- Včetně jednoho vzorku z Centra 2 a jednoho z Centra 3, posouzených jako pozitivní pouze komerčním screeningovým testem IIF.

#### Tabulka 14.2.4 Podrobné výsledky vzorků uvedených v poznámkách k tabulkách 14.2.1. až 14.2.3

| Poznámka | Vzorek č. | Kultura Výsledek | IMAGEN Výsledek screening u | IMAGEN Výsledek typizace | Komerční screening test IIF | Komerční typuzání test IIF |
|----------|-----------|------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| B        | 1         | Negativní        | Pozitivní                   | Adenovirus               | Pozitivní                   | Adenovirus                 |
| B        | 2         | Negativní        | Pozitivní                   | Adenovirus               | Pozitivní                   | Negativní                  |
| B        | 3         | Negativní        | Pozitivní                   | Chřipka A                | Pozitivní                   | Chřipka A                  |
| B        | 4         | Negativní        | Pozitivní                   | Chřipka A                | Pozitivní                   | Chřipka A                  |
| B        | 5         | Negativní        | Pozitivní?                  | Chřipka A                | Pozitivní                   | Chřipka A                  |
| B        | 6         | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Pozitivní                   | RSV                        |
| B        | 7         | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Pozitivní                   | RSV                        |
| B        | 8         | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Pozitivní                   | RSV                        |
| B        | 9         | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Pozitivní                   | RSV                        |
| B        | 10        | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Pozitivní                   | RSV                        |
| B        | 11        | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Pozitivní                   | RSV                        |
| B        | 12        | Negativní        | Pozitivní                   | RSV                      | Dvojnáčný                   | RSV                        |
| B        | 13        | Negativní        | Pozitivní                   | Parachřipka 1            | Pozitivní                   | Parachřipka 1              |
| C, E     | 14        | Parachřipka 3    | Negativní                   | Negativní                | Negativní                   | Negativní                  |
| C, E     | 15        | Adenovirus 2     | Negativní                   | Nezkoumáno               | Negativní                   | Nezkoumáno                 |
| C, E     | 16        | Parachřipka 2    | Negativní                   | Diagnózu nelze stanovit  | Negativní                   | ?Parachřipka 2             |
| C, E     | 17        | Parachřipka 2    | Negativní                   | Negativní                | Negativní                   | Diagnózu nelze stanovit    |
| C        | 18        | Parachřipka 3    | Negativní                   | ?Parachřipka 3           | Pozitivní                   | ?Parachřipka 3             |
| C        | 19        | Parachřipka 3    | Negativní                   | Parachřipka 3            | Pozitivní                   | Parachřipka 3              |
| C        | 20        | Adenovirus 4     | Negativní                   | Negativní                | Pozitivní                   | Adenovirus                 |
| D, G     | 21        | Negativní        | Negativní                   | ?Chřipka A               | Pozitivní                   | ?Chřipka A                 |
| D, G     | 22        | Negativní        | Negativní                   | Negativní                | Pozitivní                   | Negativní                  |
| E, F     | 23        | Chřipka A        | Pozitivní                   | Chřipka A                | Negativní                   | Chřipka A                  |

#### 13.1.2 Potvrzení výsledku pomocí buněčné kultury

Centra zapojená do studie zkoušela test IMAGEN Respiratory Screen na virových izolátech z klinických vzorků a uložených virových kmenech. Klinické vzorky byly odebírány hlavně během zimních období v letech 1994-95 a významná centra porovnávala test IMAGEN Respiratory Screen se standardními metodami. Virus byl izolován z kultur Hep-2, MRC-5 či RMK buněk a izolátů identifikovaných a potvrzených pomocí inhibice hemadsorpce, virové neutralizace či přímého imunofluorescenčního testu.

Celkem bylo testováno 87 kultur, z nichž bylo 7 pozitivních na RSV, 10 na chřipku A, 15 na chřipku B, 6 na parachřipku 1, 8 na parachřipku 2, 5 na parachřipku 3, 9 na adenovirus a 27 kultur bylo negativních.

#### Tabulka 14.2.5 Srovnání testu IMAGEN Respiratory Screen (po izolaci viru) a komerčního nepřímého imunofluorescenčního screeningového testu IIF (Bartels VRK) při potvrzení výsledku z kultivace v buněčné kultuře

|                                                      |                         | Komerční test IIF |                | Virová neutralizace |    |
|------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------|----------------|---------------------|----|
|                                                      |                         | +                 | -              | +                   | -  |
| Centrum 1<br>(jihozápad<br>Velké Británie)<br>n = 32 | IMAGEN +                | 17                | 1 <sup>a</sup> | 18                  | 0  |
|                                                      | Respiratory -<br>Screen | 0                 | 14             | 0                   | 14 |
| Centrum 3 (stát<br>New York, USA) n<br>= 52          | IMAGEN +                | 39                | 0              | 39                  | 0  |
|                                                      | Respiratory -<br>Screen | 0                 | 13             | 0                   | 13 |
| Oxoid Ltd n = 3                                      | IMAGEN +                | 3                 | 0              | 3                   | 0  |
|                                                      | Respiratory -<br>Screen | 0                 | 0              | 0                   | 0  |

14. LITERATURA

1.

**Palumbo P.E. and Douglas Jr R.G. (1986)**  
Respiratory Tract Infections in S. Spector and G.J. Lancz (ed). Clinical Virology Manual. Elsevier Science Publishing Inc, New York, p 263-282.

2.

**Ray C.G. and Minnich L.L. (1987)**  
Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J. Clin. Microbiol.* **25**: 355-357.

3.

**Stansfield S.K. (1987)**  
Acute respiratory infections in the developing world: strategies for preventing treatment and control. *Pediatric Infectious Disease* **6**: 622-629.

4.

**Gardner P.S., Turk D.C., Aherne W.A., Bird T., Holdaway M.D., Court S.D.M. (1967)**  
Deaths associated with respiratory tract infection in childhood. *British Medical Journal* **4**: 316-320.

5.

**Mathur U., Bentley D.W., Hall C.B. (1980)**  
Concurrent respiratory syncytial virus and influenza A infections in the institutionalised elderly and chronically ill. *Ann Intern Med* **1**: 430-431.

6.

**Purkiss D. (1983)**  
Parainfluenza infections in the elderly 1976-82. *PHLS Communicable Disease Report* **83/19**: 3.

7.

**Zaroukian M.H., Leader I. (1988)**  
Community-acquired pneumonia and infection with respiratory syncytial virus. *American Journal Medical Science* **295**: 218-222.

8.

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

9.

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

10.

**Potter C.W. (1990)**  
Influenza. In Principles and Practice for Clinical Virology (eds A.J. Zuckerman et al). John Wiley and Sons Ltd, Chichester, pp 213-238.

11.

**Murphy B.R. and Webster R.G. (1990)**  
Orthomyxoviruses in Virology (eds B.N. Fields and D.M. Kripe) Raven Press, New York, pp 1091-11523.

12.

**Wadell G. (1990)**  
Adenoviruses. In Principles and Practice of Clinical Virology (eds A.J. Zuckerman et al). John Wiley and Sons Ltd. Chapter 4 iv, pp 267-287.

13.

**Horwitz M.S. (1985)**  
Adenoviral diseases: In Virology (eds B.N. Fields et al). Raven Press, New York, Chapter 24, pp 477-495.

14.

**Shaw M.W., Arden N.H. and Maassab H. (1992)**  
New aspects of Influenza viruses. *Clinical Microbiology Reviews* **5**: 74-92.

15.

**Galbraith A.W. (1980)**  
Influenza – Recent developments in prophylaxis and treatment. *British Medical Bulletin* **41**: 381-385.

16.

**Hall C.B., McBride J.T., Gala C.L., Hildreth S.W., Schnabel K.C. (1985)**  
Ribavirin treatment of respiratory syncytial viral infection in infants with underlying cardiopulmonary disease. *JAMA* **254**: 3047-3051.

17.

**Gardner P.S. and McQuillin J. (1980)** Rapid virus diagnosis: Application of immunofluorescence (2nd Ed) Butterworth, London, pp 92-123.

18.

**Hughes J.H., Mann D.R. and Hamparian V.V. (1988)** Detection of respiratory syncytial virus in clinical specimens by viral culture, direct and indirect immunofluorescence, and enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* **26**: 588-591.

19.

**Bartholoma N.Y. and Forbes B.A. (1989)** Successful use of shell vial centrifugation and 16 to 18 hour immunofluorescent staining for the detection of Influenza A and B in clinical specimens. *Am J Clin Pathol* **92**: 487-490.

20.

**Krech T., Gerhard-Fsadni D., Hofmann N., Miller S.M. (1985)** In-terference of Staphylococcus aureus in the detection of *Chlamydia trachomatis* by monoclonal antibodies. *The Lancet*, 1161-1162.

21.

**Tyeryar F.J. (1983)** Report of a workshop on Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Viruses *Journal of Infectious Diseases* **148**: 588-598.'

22.

**Caul E.O. (1986)** Personal communication (on file at Oxoid (Ely) Ltd).

23.

**Chin D.Y., Mosley W.H., Poland J.D., Rush D., Belden E.A., Johnson O. (1963)** Epidemiologic Studies of Type B influenza in 1961-1962. *American Journal of Public Health* **53**: 1068-1074

24.

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



X7852A Revize března 2017

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

Se všemi dotazy se prosím obraťte na místní pobočku nebo distributora společnosti Oxoid.

Náhradní pokyny k použití (IFU) a alternativní jazykové verze jsou dostupné na [www.oxoid.com/IFU](http://www.oxoid.com/IFU)