

Minuten lang vorsichtig in einem Schüttelbad mit PBS waschen. PBS abfließen lassen und Objektträger bei Raumtemperatur (15-30 °C) trocknen lassen.

10.4. HINZUFÜGEN DES ANTI-MAUS-FITC-KONJUGATS

Auf jedes probenobjektträgerfeld 25µL und auf jedes kontrollobjektträgerfeld 20µL FITC-reagenz tropfen. Das reagenz muss das ganze feld bedecken. Für felder mit einem kleineren durchmesser als 6mm sollte man 20µL reagenz verwenden.

10.5. ZWEITE INKUBATION

Objektträger mit dem FITC-reagenz in einer **feuchten kammer 15 minuten lang bei 37°C inkubieren**. Das reagenz auf der probe **nicht trocknen lassen**. Dies führt zu einer unspezifischen färbung.

10.6. WASCHEN DES OBJEKTRÄGERS

Vorsichtig unter Verwendung einer Spritzflasche mit PBS spülen. PBS-Strahl nicht genau auf die Vertiefungen richten. Objektträger nach unten kippen und den PBS-Strahl über den Objektträger über die Vertiefungen laufen lassen und die PBS über die Unterkante des Objektträgers ablaufen lassen. Objektträger 5 Minuten lang vorsichtig in einem Schüttelbad mit PBS waschen. PBS abfließen lassen und Objektträger bei Raumtemperatur (15-30 °C) trocknen lassen.

10.7. HINZUFÜGEN DES EINDECKMEDIUMS

Einen tropfen einbettungsmedium in die mitte jedes felds tropfen und luftblasenfrei mit einem deckgläschen versehen.

10.8. AUSWERTEN DES OBJEKTRÄGERS

Die gesamten felder mit den gefärbten proben mit hilfe eines epifluoreszenzmikroskops untersuchen. Die fluoereszenz sollte, wie in abschnitt 11 beschrieben, bei einer vergrößerung von x200 - x500 sichtbar sein. (Die besten ergebnisse werden unmittelbar nach dem färben erzielt. Die objektträger können jedoch im dunkeln bei 2-8°C bis zu 24 stunden aufbewahrt werden).

Wenn ein positives screening-ergebnis erzielt wird (siehe Abschnitt 11.2.), kann die spezifische Identifikation des vorliegenden virus auf einem weiteren objektträger mit 8 feldern mit hilfe der in Abschnitt 6.1 aufgelisteten IMAGEN-reagenzien zur direkten immunfluoreszenz vorgenommen werden.

11. INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

11.1. KONTROLLEN

11.1.1 Positivkontrollfelder

Werden die positiven felder auf dem kontrollobjektträger entsprechend der anleitung in abschnitt 10 gefärbt und begutachtet, dann sollten zellen mit einer intrazellulären apfelgrünen zytoplasmatischen und/oder einer nukleären fluoereszenz vor einem hintergrund aus rotgefärbtem material zu sehen sein. Die positivenkontrollfelder dienen zur kontrolle, ob die färbereaktion zufriedenstellend abgelaufen ist.

11.1.2 Negativkontrollfelder

Werden die negativen felder auf dem kontrollobjektträger der anleitung in Abschnitt 10 entsprechend gefärbt und begutachtet, dann sollten die zellen keine intrazelluläre apfelgrüne fluoereszenz zeigen. Es sollte lediglich die rote gegenfärbung zu sehen sein.

11.2. KLINISCHE PROBEN

11.2.1 Nachweis von virusinfizierten Zellen

Infizierte zellen zeigen eine apfelgrüne zytoplasmatische und/oder nukleäre fluoereszenz. Nichtinfizierte zellen erscheinen nach der gegenfärbung mit Evans-blau rot.

11.2.2 Interpretation

Wenn eine oder mehrere zellen das in Abschnitt 11.2.1 beschriebene typische fluoereszenzmuster aufweisen, liegt ein positives ergebnis vor.

Zeigen fixierte und gefärbte proben keine fluoereszenz mit dem screening-reagenz, dann sind sie als negativ anzusehen.

Bei direkt gefärbten nasopharyngealen absaugsekretproben müssen mindestens 20 nichtinfizierte respiratorische (zylinder) epithelzellen auf jedem objektträgerfeld nachgewiesen werden, bevor ein negatives ergebnis festgestellt werden kann. Bei unzureichender zellzahl siehe Abschnitt 11.2.3.

11.2.3 Unzureichende Zellzahl

Wenn auf dem objektträger eine unzureichende zellzahl vorliegt, muss der rest der klinischen probe 10 minuten lang mit 380g bei raumtemperatur (15-30°C) zentrifugiert werden. Vor dem verteilen auf die felder (jeweils 25µL) in einem kleineren volumen (ungefähr 50µL) PBS resuspendieren. Alternativ muss eine wiederholung der klinischen probe angefordert werden.

11.2.4 Qualitätskontrolle

Bei jeder untersuchung mit den IMAGEN Respiratory Screen reagenzien immer gleichzeitig einen kontrollobjektträger mit positiven und negativen feldern färben und untersuchen.

Die kontrollobjektträger in diesem test sind dafür bestimmt, die durchführung des färbeverfahrens und die reaktivität der reagenzien mit, influenzavirus A und B, parainfluenzavirus 1, 2 und 3 und adenovirus in infizierten zellen zu kontrollieren.

11.2.5 Darstellung der Ergebnisse

Zur darstellung der ergebnisse empfehlen sich folgende richtlinien:

Positive ergebnisse, wie in 11.2.2 definiert:

Mutmaßlich positiv für, RSV influenzavirus A und B, parainfluenzavirus 1, 2 oder 3 und adenovirus. Isolierung aus der kultur und identifizierung müssen folgen. Zur identifizierung siehe Abschnitt 11.4.

Negative ergebnisse, wie in 11.2.2 definiert:

Mutmaßlich negativ für das RSV, influenzavirus A und B, parainfluenzavirus 1, 2 oder 3 und adenovirus. Verifizierung mittels kultur muss folgen.

11.3. BESTÄTIGUNG DURCH ZELLKULTUR

11.3.1 Erscheinungsbild der virusinfizierten Zellen

Die infizierten zellen zeigen eine intrazelluläre, nukleäre und/oder zytoplasmatische apfelgrüne fluoereszenz und werden als positiv festgehalten. Nichtinfizierte zellen erscheinen mit Evans-blau-gegenfärbung rot.

11.3.2 Interpretation der Ergebnisse

Es erfolgt eine positive diagnose, wenn nach der färbung mindestens eine fixierte zelle ein wie in Abschnitt 11.3.1 beschriebenes fluoereszenzmuster zeigt.

Das ergebnis ist negativ, wenn fixierte proben nach der färbung mit den reagenzien keine fluoereszenz zeigen.

Es müssen mindestens 50 nichtinfizierte zellen der untersuchten zellkultur in jedem Objektträgerfeld sichtbar sein, bevor die probe als negativ bewertet wird. Siehe Abschnitt 11.3.4, wenn zu wenig zellen vorliegen.

11.3.3 Aufzeichnung der Ergebnisse

Zur darstellung der ergebnisse empfehlen sich folgende richtlinien:

Positive ergebnisse, wie in 11.3.2 definiert:

Positiv für ein virus oder mehrere, RSV influenzavirus A und B, parainfluenzavirus 1, 2 oder 3 und adenovirus. Viren anschließend identifizieren. Zur identifizierung siehe Abschnitt 11.4.

Negative ergebnisse, wie in 11.3.2 definiert:

Negativ für das RSV, influenzavirus A und B, parainfluenzavirus 1, 2, oder 3 und adenovirus.

11.3.4 Unzureichende Zellzahl

Wenn auf dem objektträger eine unzureichende zellzahl vorliegt, muss der rest der zellkulturprobe 10 minuten lang mit 200g bei raumtemperatur (15-30°C) zentrifugiert werden. Vor dem verteilen auf die felder (jeweils 25µL) in einem kleineren volumen (ungefähr 50µL) PBS resuspendieren.

Alternativ müssen frische zell-monolayers mit einer erneut entnommenen probe inokuliert werden und die viruszellkultur muss wiederholt werden.

11.4. IDENTIFIZIERUNG DER RESPIRATORISCHEN VIREN

Man kann den entsprechenden typ eines respiratorischen virus identifizieren, indem man die positiven ergebnisse durch spezifische IMAGEN direkt-immunfluoreszenz-reagenzien (siehe Abschnitt 6.1, siehe Abschnitt 9 zur vorbereitung der objektträger), bestätigt.

12. EINSCHRÄNKUNGEN DER LEISTUNGSFÄHIGKEIT DES TESTS

12.1. Nur das mitgelieferte eindeckmedium verwenden.

12.2. Obwohl die monoklonalen antikörper dieses tests gegen prototypstäme gezogen und auf ihre reaktivität mit einem konservierten epitop selektiert wurden, erkennen sie möglicherweise keine neuen virusstäme oder solche stämme, bei denen eine antigene variation im zielepitop vorliegt.

12.3. Das screening-reagenz und die Negativkontrolle können *Staphylococcus aureus*-stäme mit protein A unspezifisch anfärben. Dies liegt an der nichtimunen interaktion von protein A mit der Fc-region der monoklonalen antikörper. Diese beobachtung macht man auch bei anderen fluoereszenztests auf der basis monoklonaler und polyklonaler antikörper²⁰.

12.4. Das erscheinungsbild der fluoereszenz kann abhängig von mikroskoptyp und lichtquelle variieren.

12.5. Es empfiehlt sich, zum abdecken des gesamten 6mm großen testareals 25µL reagenz zu verwenden. Wird dieses volumen reduziert, kann das zu schwierigkeiten beim abdecken der von der probe eingenommenen fläche führen und die testempfindlichkeit herabsetzen

12.6. Alle reagenzien werden in einer definierten gebrauchskonzentration geliefert. Die leistungsfähigkeit des tests kann beeinträchtigt sein, wenn reagenzien modifiziert oder nicht unter den in Abschnitt 5 empfohlenen bedingungen gelagert werden.

12.7. Der IMAGEN Respiratory Screen eignet sich nicht zur identifizierung der einzelnen respiratorischen viren. Für eine identifizierung sollten die positiven proben mit den einzelnen IMAGEN direkt-ilmunfluoreszenz-reagenzien weiter untersucht werden (siehe Abschnitt 6).

12.8. Wenn ein virus durch direkte tests oder zellkulturbestätigung nicht nachgewiesen werden kann, kann dies an der probenentnahme zu einem ungeeigneten zeitpunkt, fehlern bei der entnahme und/oder bei dem umgang mit der probe oder einem versagen der zellkultur usw. liegen. Ein negatives ergebnis schließt eine virale Infektion nicht aus.

12.9. Die ergebnisse sollten in zusammenhang mit epidemiologischen Informationen, dem klinischen erscheinungsbild und anderen diagnostischen verfahren interpretiert werden.

12.10. Bei der Herstellung des Kontrollobjektträgers kann es u. U. zu einer Vermischung des Materials kommen (d. h. ein paar positive Zellen gelangen in die Vertiefung mit den negativen Zellen). Der Objektträger ist immer noch als Kontrolle geeignet, um die korrekte Leistung der Färbetechnik sowie die Reaktivität des Reagenzes mit RSV, dem Influenzavirus A und B, dem Parainfluenzavirus 1, 2 oder 3 und dem Adenovirus bei infizierten Zellen zu bestimmen.

13. ERWARTUNGSWERTE

Die nachweishäufigkeit für respiratorische viren wird durch geographische, klimatische und saisonale faktoren wie auch durch demographische faktoren, etwa die Überbevölkerung, das soziale umfeld und den ernährungsstatus, beeinflusst. Außerdem können auch die probenqualität, also die untersuchte probenart, der zeitpunkt der probengewinnung während einer Infektion, die probenhandhabung und lagerung und verfahren zur vorbereitung der abstriche den erfolg einer diagnosestellung mittels direkter nachweistechniken beeinflussen.

Die respiratorischen viren kommen grundsätzlich auf der ganzen welt vor. Sie können sporadische Infektionen, kleinere ausbrüche, epidemien oder gelegentlich auch pandemien mit neuen antigenen viralen varianten verursachen. Trotz saisonalen auftretens der infektionen durch die respiratorischen viren ist es möglich, dass während einer saison viren wie parainfluenza 1 und 2 und influenza B wegen ihrer geringen häufigkeit nicht isoliert oder nachgewiesen werden können.

Das **Respiratory-Syncytial-Virus** tritt saisonal mit signifikanten ausbrüchen von infektionen der oberen und unteren atemwege auf. Am stärksten gefährdet sind kleinkinder in den ersten sechs lebensmonaten und alle immungeschwächten menschen. Etwa 50% aller kinder erleiden in ihrem ersten lebensjahr eine RSV-Infektion.²¹ Während einer saison ist das RSV ursächlich für 20% aller atemwegsinfektionen.²¹

Auch die **Influenzaviren A oder B** können infektionserkrankungen hervorrufen. Die häufigkeit der influenzavirus-A-Infektionen wird sehr stark durch den immunstatus einer population bezüglich der gerade vorhandenen virusstäme beeinflusst. Ist die immunität stark ausgeprägt, dann verursacht das virus etwa 15% der atemwegsinfektionen. Treten jedoch neue stämme auf, gegen die es nur geringe oder keine angeborene immunität gibt, ist das influenzavirus für mehr als 50% aller atemwegsinfektionen verantwortlich²².

Die häufigsten infektionen mit influenzavirus B werden bei kindern im schulalter beobachtet²³.

Das **Adenovirus** ist für 5% der akuten atemwegsinfektionen bei kindern unter 4 Jahren und für 10% aller atemwegsinfektionen bei den ins krankenhaus eingewiesenen kindern verantwortlich¹². Manchmal sind adenoviren bei jungen erwachsenen verantwortlich für kleine, örtlich begrenzte epidemien einer akuten atemwegserkrankung. besonders betroffen sind diejenigen, die in beengten verhältnissen leben.

Parainfluenzavirus-infektionen sind für bis zu 20% der atemwegserkrankungen bei kindern zwischen zwei und vier Jahren mit schweren symptomen wie etwa laryngotracheobronchitis (Krupp) verantwortlich²⁴. Bei älteren kindern und erwachsenen können infektionsausbrüche, insbesondere durch den parainfluenzavirus 3, auftreten. Mehr als 90% der kleinkinder werden früh in ihrem leben mit einem parainfluenzavirus infiziert. Häufig kommt es zu symptomatischen reinfektionen⁸. Eine größere anzahl von infektionen mit dem parainfluenzavirus 3 tritt bevorzugt im frühling oder sommer auf.

Ein direkter nachweis der respiratorischen viren in den

epithelzellen des atemtraktes gewährleistet eine schnelle und klinisch relevante diagnostische aussage gerade dann, wenn für eine erfolgreiche diagnose entweder die lebensfähigkeit des virus begrenzt ist oder eine ausstattung für eine viruskultivierung fehlt.

Während des winters 1994-95 wurde von drei krankenhauslaboratorien eine klinische evaluierung durchgeführt, die folgende häufigkeitsraten ergab.

In einem kinderkrankenhaus im Westen des amerikanischen Bundesstaats New York wurde mit Hilfe der direkten Immunfluoresenz bei 43,6% (478/1096) der atemwegsproben das RSV identifiziert. Mit hilfe dieser methode und zusätzlich der Isolierung aus der zellkultur wurde bei 3,1% der proben (34/1096) das influenzavirus A und bei 1,1% (12/1096) der proben das influenzavirus B identifiziert.

Mittels isolierung aus der zellkultur wurde bei 4,4% (39/883) der atemwegsproben das adenovirus und bei 2,9% (26/883) ein parainfluenzavirus nachgewiesen (darunter zwei proben mit parainfluenzavirus 1, drei mit parainfluenzavirus 2 und 21 mit parainfluenzavirus 3).

In einem krankenhaus im Nordwesten von Großbritannien mit einer mannigfaltigen patientenstruktur wurde mit hilfe der direkten immunfluoreszenz bei 49,68% (467/940) der atemwegsproben RSV nachgewiesen. Mit hilfe der direkten immunfluoresenz oder der isolierung aus der zellkultur wurde in 1,7% (16/940) der Fälle das Influenzavirus B, in 1,17% (11/940) das adenovirus und in 0,1% (1/940) das parainfluenzavirus Typ 1 identifiziert.

In einem krankenhaus im Südwesten von Großbritannien mit einer komplexen patientenbelegung wurde mit hilfe der direkten immunfluoreszenz bei 10,6% (195/1840) der atemwegsproben das RSV und mit hilfe der direkten immunfluoresenz oder der isolierung aus der zellkultur bei 3,04% (56/1840) der fälle das Influenza B identifiziert. Bei 1,2% (22/1840) der fälle wurde das adenovirus durch zellkulturisolation identifiziert. Mit hilfe der direkten immunfluoresenz oder der isolierung aus der zellkultur wurde in 1,14% (21/1840) der proben ein parainfluenzavirus nachgewiesen. Außerdem wurden aus den atemwegsproben die folgenden viren isoliert: picornavirus 1% (18/1840), zytomegalovirus 0,38% (7/1840), rhinovirus 1,7% (32/1840) Herpes-simplex-virus typ 1 0,03% (19/1840) und Herpes-simplex -virus typ 2 0,5% (1/1840).

14. SPEZIFISCHE TESTKRITERIEN

14.1. KLINISCHE STUDIEN

IMAGEN Respiratory Screen wurde an zwei zentren für klinische versuche in Großbritannien für den direkten gebrauch evaluiert. Ein zentrum liegt im nordosten des landes, das andere im südwesten. Ein weiteres untersuchungszentrum befindet sich im Amerikanischen Bundesstaat New York. Untersucht wurden schleimproben von kindern und erwachsenen, die mit symptomen einer atemwegsinfektion in die kliniken eingeliefert wurden. Der test wurde auch hinsichtlich eines nachweises von virusantigenen in mit schleimproben inokulierten zellkulturen evaluiert.

Die proben wurden vom winter 1994 bis zum frühjahr 1996 gesammelt. Die untersuchungszentren verglichen das IMAGEN Respiratory Screen mit standardmethoden und einem auf dem markt verfügbaren indirekten immunfluoreszenztest mit einem screening-reagenz und einzelnen typisierungsreagenzien. Zur evaluierung wurden frische und gefrorene klinische proben untersucht. Zusätzlich wurden gefrorene proben von 1993-94 getestet.

Zum nachweis von viren führten die untersuchungszentren direkte tests mit 343 klinischen proben und 87 einschichtigen zellkulturen durch. Im falle der direkt untersuchten proben wurde der IMAGEN Respiratory Screen gegen einen käuflichen indirekten immunfluoreszenz screening-test und viruskulturen evaluiert. Hinsichtlich der zellkulturen wurde der IMAGEN Respiratory Screen außerdem gegen einen auf dem markt verfügbaren indirekten immunfluoreszenz-screen-test und entweder die hämadsorptionshemmung, die virusneutralisierung oder die direkte Immunfluoreszenz evaluiert.

14.2. KLINISCHE ANWENDUNG

14.2.1 Direkte Probenuntersuchung

An den drei untersuchungszentren wurden insgesamt 343 nasopharyngeale absaugsekrete (NPAs) evaluiert. Davon waren 121 proben negativ,

144	Proben waren positiv für RSV,
11	Proben waren positiv für influenzavirus A,
5	Proben waren positiv für influenzavirus B,
19	Proben waren positiv für parainfluenzavirus 1,
4	Proben waren positiv für parainfluenzavirus 2,
26	Proben waren positiv für parainfluenzavirus 3
8	Proben waren positiv für adenovirus,
141	Proben wiesen koinfektionen auf:
5	koinfektion von RSV und parainfluenzavir 1,
2	koinfektion von RSV und adenovirus,
1	koinfektion von adenovirus und influenzavirus B
1	koinfektion von adenovirus und parainfluenzavirus 3
1	co-infection d’adenovirus et de virus parainfluenza 3

Tabelle 14.2.1 zeigt ergebnisse einer vergleichsstudie des IMAGEN Respiratory Screen und eines kommerziellen indirekten immunfluoreszenz-screening-tests mit einer virusisolierung direkt aus den schleimproben. Beim IMAGEN Respiratory Screen wurde, verglichen mit der standardmethode, eine ubereinstimmung von 94,1% (317/337) erreicht. Die testsensitivität betrug im vergleich zur virusisolierung 96,7% (205/212).

Tabelle 14.2.1 Vergleich des IMAGEN Respiratory Screening und eines kommerziellen indirekten Immunfluoreszenz screening-tests mit virusisolierung direkt aus den schleimproben

	IMAGEN Respiratory Screening	Käuflicher IIF-Test
	+ -	+ -
Virusisolierung ^a	207 13 ^b	207 15 ^d
% Relative Sensitivität	96,7 (205/212)	97,6 (207/212)
95% Konfidenzbereich	(94-99%)	(95-100%)
% Relative Spezifität	89,6 (112/125)	88,0 (110/125)
95% Konfidenzbereich	(83-94%)	(81-93%)
% Korrelation	94,1 (317/337)	94,1 (317/337)
95% Konfidenzbereich	(91-97%)	(91-97%)

a Die viren wurden mit hilfe von Hep-2-, A549-, primären Rhesusaffen-Nieren-, MK-, HEL-, RK13- oder G293-zelllinien isoliert. Die isolierung wurde durch die spezifische indirekte immunfluoreszenz und entweder durch hämadsorptionshemmung, virusneutralisierung oder durch direkte Immunfluoreszenz bestätigt.

b Dreizehn ebenfalls positive proben in direkten tests: verwendet wurden der IMAGEN und kommerzielle typisierungstests (siehe Tabelle 14.2.4) davon waren:

RSV	7
Influenzavirus A	3
Parainfluenzavirus1	1
Adenovirus	2

c Zwei für adenovirus positive proben; zwei für parainfluenzavirus 2 positive proben; drei für parainfluenzavirus 3 positive proben (siehe Tabelle 14.2.1).

d Fünfzehn proben, darunter dreizehn, die in fußnoteb erklärt sind, und zwei weitere proben, nur positiv im käuflichen IIF-test (siehe Tabelle 14.2.1).

e Fünf im käuflichen IIF-test negative proben, darunter ein influenzavirus A, zwei parainfluenzavirus 2, ein parainfluenzavirus 3 und ein adenovirus (siehe Tabelle 14.2.1).

Tabelle 14.1.2 zeigt einen Vergleich zwischen dem IMAGEN Respiratory Screen und einem kommerziellen indirekten immunfluoreszenz-screening-test mit nasopharyngealen schleimproben, durchgeführt in allen drei untersuchungszentren. In zentrum 1 und 2 wurden alle untersuchten proben (mit ausnahme von 7 proben in zentrum 2) eingefroren gelagert. In zentrum 3 wurden 121 proben frisch innerhalb von 24 stunden nach der gewinnung und 68 proben nach der lagerung im gefrierschrank getestet.

Tabelle 14.2.2 Vergleich des IMAGEN Respiratory Screen mit einem käuflichen indirekten immunfluoreszenz screening-test- (Bartels VRK) an atemwegsschleimproben

	IMAGEN + Respiratory Screen	Käuflicher IIF-Test
	-	+ -
Untersuchungszentrum 1 (Südwesten von GB) n = 74	0 -	49 0
Untersuchungszentrum 2 (Nordosten von GB) n = 80	0 -	46 4 ^e
Untersuchungszentrum 3 (Bundesstaat New York, USA) n = 189	0 -	126 1 ^f 61

f Eine probenkultur positiv für influenzavirus A, das auch sowohl im direkten test und als auch in kultur mit dem IMAGEN influenzavirus-A-reagenz typisiert wurde

g Erfasst ist auch eine probe von Zentrum 2 und eine probe von Zentrum 3, die nur im käuflichen IIF-screening-test positiv waren.

Tabelle 14.2.3 fasst die daten von allen drei untersuchungszentren zusammen, die sich aus dem Vergleich des IMAGEN Respiratory Screen mit dem käuflichen indirekten Immunfluoreszenz screening-test an nasopharyngealen Schleimproben ergaben.

Tabelle 14.2.3 Zusammenfassung des Vergleichs des IMAGEN Respiratory Screen it einem käuflichen indirekten immunfluoreszenz-screening-test (Bartels VRK) an atemwegsschleimproben

	+	-
IMAGEN Respiratory Screen	221 5 ^f	1 ^f 116
Relative Sensitivität	97,8% (221/226)	
95% Konfidenzbereich	(95-99%)	
Relative Spezifität	99,1% (116/117)	
95% Konfidenzbereich	(95-100%)	
% Korrelation	98,3% (337/343)	
95% Konfidenzbereich	(96-99%)	

f Eine probenkultur positiv für influenzavirus A, das auch sowohl im direkten test und als auch in kultur mit dem IMAGEN influenzavirus-A-reagenz typisiert wurde.

g Erfasst ist auch eine probe von Zentrum 2 und eine probe von Zentrum 3, die nur im käuflichen IIF-Screening-Test positiv waren.

Tabelle 14.2.4 Genaue auflistung der ergebnisse von proben, die in den fußnoten der Tabellen 14.2.1, 14.2.2 und 14.2.3 aufgeführt sind

Fußnoten-referenz	Proben-Nr.	Ergebnisse der Kultur	IMAGEN Screening-Ergebnis	IMAGEN Typisierungs-Ergebnis	Käuflicher IIF-Screening-Test	Käuflicher IIF-Typisierungs-Test
B	1	Negativ	Positiv	Adenovirus	Positiv	Adenovirus
B	2	Negativ	Positiv	Adenovirus	Positiv	Negativ
B	3	Negativ	Positiv	Influenza A	Positiv	Influenza A
B	4	Negativ	Positiv	Influenza A	Positiv	Influenza A
B	5	Negativ	?Positiv	Influenza A	Positiv	Influenza A
B	6	Negativ	Positiv	RSV	Positiv	RSV
B	7	Negativ	Positiv	RSV	Positiv	RSV
B	8	Negativ	Positiv	RSV	Positiv	RSV
B	9	Negativ	Positiv	RSV	Positiv	RSV
B	10	Negativ	Positiv	RSV	Positiv	RSV
B	11	Negativ	Positiv	RSV	Positiv	RSV
B	12	Negativ	Positiv	RSV	grenzwertig	RSV
B	13	Negativ	Positiv	Parainfluenza 1	Positiv	Parainfluenza 1
C und E	14	Parainfluenza 3	Negativ	negativ	Negativ	Negativ
C und E	15	Adenovirus 2	Negativ	n i c h t untersucht	Negativ	n i c h t untersucht
C und E	16	Parainfluenza 2	Negativ	n i c h t diagnostisierbar	Negativ	?Parainfluenza 2
C und E	17	Parainfluenza 2	Negativ	negativ	Negativ	n i c h t diagnostisierbar
C	18	Parainfluenza 3	Negativ	?Parainfluenza 3	Positiv	?Parainfluenza 3
C	19	Parainfluenza 3	Negativ	Parainfluenza 3	Positiv	Parainfluenza 3
C	20	Adenovirus 4	Negativ	Negativ	Positiv	

Untersuchungs- z e n t r u m 3 (Bundesstaat New York, USA) n=52	I M A G E N + Respiratory - Screen	39 0 0 13	39 0 0 13
Oxoid (Ely) Ltd n=3	I M A G E N + Respiratory - Screen	3 0 0 0	3 0 0 0

a Proben, aus denen das RSV isoliert und mittels kultur typisiert wurde

Tabelle 14.2.6 Zusammenfassung eines vergleichs des IMAGEN Respiratory Screen mit der virusisolierung und einem käuflichen IIF-test (Bartels VRK) zur verifizierung mittels zellkultur

	Käuflicher IIF-Test		Virusneutralisierung	
	+	-	+	-
IMAGEN Respiratory Screen	59	1*	60	0
	0	27	0	27
% Relative Sensitivität	100(59/59)		100 (60/60)	
95% Konfidenzbereich	(94-100%)		(94-100%)	
% Relative Spezifität	96,4(27/28)		100 (27/27)	
95% Konfidenzbereich	(82-100%)		(87-100%)	
% Korrelation	98,9 (86/87)		100 (87/87)	
95% Konfidenzbereich	(94-100%)		(96-100%)	

a Proben, aus denen das RSV isoliert und mittels kultur typisiert wurde

14.3. KREUZREAKTIVITÄT

Die mikroorganismen in Tabelle 14.3.1 wurden mit dem IMAGEN Respiratory Screen untersucht und zeigten keine kreuzreaktivität. Die kreuzreaktivität wurde auf objektträgerpräparaten von stammkulturen oder frischen mikrobiellen isolaten untersucht.

Tabelle 14.3.1 Mit dem IMAGEN Respiratory Screen untersuchte, nicht kreuzreagierende mikroorganismen

Mikroorganismus	Quelle
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	NCTC 10116 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Bordetella pertussis</i> ¹	Schokoladenagar ³
<i>Branhamella catarrhalis</i> ¹	Schokoladenagar ³
<i>Candida albicans</i> ²	Pilzmedium ³
<i>Chlamydia pneumoniae</i> ¹	Käufliche präparation ⁴
<i>Chlamydia psittaci</i> ²	Käufliche präparation ⁴
<i>Chlamydia trachomatis</i> A-K,	Käufliche präparation ⁴
LGV1-LGV3 ¹	
<i>Coxsackievirus A9</i>	Käufliche präparation ⁵
<i>Coxsackievirus B1, B2, B3, B4, B5</i>	Originalstämme ^{6,5}
<i>Zytomegalovirus</i>	Klinisches humanisolat ⁵
<i>Echovirus 9, 11, 19, 22</i>	Klinische humanisolate ⁵
<i>Epstein-Barr-Virus</i>	In serologischen routinetests verwendetes käufliches präparat ⁵
<i>Herpes-simplex-Virus Typ 1 und 2</i>	Käufliche präparation ⁵
<i>Legionella pneumophila</i>	Serogruppe1. In serologischen Routinetests verwendetes, formalisiertes käufliches dottersackpräparat ⁴
<i>Mycoplasma arginini</i>	NCTC 10129 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Mycoplasma hominis</i>	NCTC 10111 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Mycoplasma hyorhinus</i>	NCTC 10130 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Mycoplasma orale</i>	NCTC 10112 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	NCTC 10119 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Mycoplasma salivarium</i>	NCTC 10113 Nährmedium-Kultursediment ²
<i>Neisseria cinerea</i> ²	Blutagar ³
<i>Neisseria lactamica</i> ²	Blutagar ³
<i>Neisseria meningitidis</i> A, B, C ¹	Blutagar ³
<i>Neisseria perflava</i> ¹	Blutagar ³
<i>Poliovirus Typ 1, 2 und 3</i>	Klinische humanisolate ⁵
<i>Pneumocystis carinii</i>	In serologischen routinetests verwendetes käufliches präparat ⁴
<i>Rhinovirus</i>	Klinisches humanisolat ⁵
<i>Streptococcus-Gruppen A, B, C, D, F und G</i> ¹	Kolumbien-agar ¹

- Oxoid (Ely) Ltd - eigene Daten
- Abstrich nach 3-tägiger kultivierung in nährmedium, 30 minuten lang mit 3000g zentrifugiert, in PBS gewaschen, in 100µL PBS resuspendiert. 15µL suspension auf die felder der objektträger aufgebracht.
- Aus kulturmedium in PBS hergestellte, milchige suspensionen, zentrifugiert, gewaschen, in 1mL PBS resuspendiert. 20µL suspension auf die felder der objektträger aufgebracht.
- Käufliche objektträger-präparate.
- Aus viralen flaschenkulturen mit 50% CPE hergestellte abstriche, gewaschen, in 0,2mL PBS resuspendiert. 15µL suspension auf die felder der objektträger aufgebracht.

15. REFERENZEN

16.

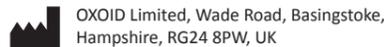
- Palumbo P.E. and Douglas Jr R.G. (1986)**
Respiratory Tract Infections in S. Spector and G.J. Lancz (ed). Clinical Virology Manual. Elsevier Science Publishing Inc, New York, p 263-282.
- Ray C.G. and Minnich LL. (1987)**
Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J. Clin. Microbiol.* **25**: 355-357.
- Stansfield S.K. (1987)**
Acute respiratory infections in the developing world: strategies for preventing treatment and control. *Pediatric Infectious Disease* **6**: 622-629.
- 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.
- 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.
- Purkiss D. (1983)**
Parainfluenza infections in the elderly 1976-82. *PHLS Communicable Disease Report* **83/19**: 3.
- Zaroukian M.H., Leader I. (1988)**
Community-acquired pneumonia and infection with respiratory syncytial virus. *American Journal Medical Science* **295**: 218-222.
- Welliver R. (1982)**
Natural history of parainfluenza virus infection in childhood. *Journal of Pediatrics* **101**: 180-187.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Horwitz M.S. (1985)**
Adenoviral diseases: In Virology (eds B.N. Fields et al). Raven Press, New York, Chapter 24, pp 477-495.
- Shaw M.W., Arden N.H. and Maassab H. (1992)**
New aspects of Influenza viruses. *Clinical Microbiology Reviews* **5**: 74-92.
- Galbraith A.W. (1980)**
Influenza – Recent developments in prophylaxis and treatment. *British Medical Bulletin* **41**: 381-385.
- 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.

- Gardner P.S. and McQuillin J. (1980)** Rapid virus diagnosis: Application of immunofluorescence (2nd Ed) Butterworth, London, pp 92-123.
- 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.
- 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.
- Krech T., Gerhard-Fsadni D., Hofmann N., Miller S.M. (1985)** Interference of Staphylococcus aureus in the detection of *Chlamydia trachomatis* by monoclonal antibodies. *The Lancet*, 1161-1162.
- Tyeryar F.J. (1983)** Report of a workshop on Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Viruses *Journal of Infectious Diseases* **148**: 588-598.
- Caul E.O. (1986)** Personal communication (on file at Oxoid (Ely) Ltd).
- 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
- McClean, D.M., Bannatyre, R.M. and Givan, K.F. (1967)** Myxovirus dissemination by air. *Canadian medical Association Journal* **89**: 1257-59



X7852A überarbeitet März 2017



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

Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Händler vor Ort.

Ersatz-Gebrauchsanweisungen und andere Sprachversionen siehe www.oxoid.com/IFU