



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

[REF] K612011-2**Σ**100**EL**

1. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το IMAGEN™ Respiratory Screen είναι μια ποιοτική εξέταση έμμεσου ανοσοφθορισμού, που χρησιμοποιείται για την υποθετική ανίχνευση του ιού του αναπνευστικού συγκυτίου (RSV), των ιών της γρίπης Α και Β, του ιού της παραϊνφλουέντζας 1, 2 και 3 καθώς και του αδενοϊού σε αναπνευστικά δείγματα (ρινοφαρυγγικά υλικά αναρρόφησης) και σε κυτταροκαλλιέργειες. Ο προσδιορισμός δεν παρέχει διάκριση καθενός από τους ιούς. Κάθε ιός θα πρέπει να υποβάλλεται σε περαιτέρω αναγνώριση και επιβεβαίωση χρησιμοποιώντας μονοδύναμα αντιδραστήρια επισημασμένων με ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη (FITC) μονοκλωνικών αντισωμάτων , όπως η σειρά IMAGEN, ή άλλες μεθόδους. Τα αποτελέσματα από το άμεσο αναπνευστικό δείγμα πρέπει να επιβεβαιώνονται με κυτταροκαλλιέργεια.

2. ΣΥΝΟΨΗ

Οι ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος συνδέονται παγκοσμίως με μείζονα αριθμό κρουσμάτων αναπνευστικών νόσων, οι οποίες έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην παγκόσμια υγεία.^{1,2,3} Οι ιοί προκαλούν νόσο σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, αλλά οι λοιμώξεις εμφανίζονται σε πιο βαριά μορφή σε βρέφη, ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένους πληθυσμούς, οδηγώντας σε νοσοκομειακή νοσηλεία των ασθενών⁴. Κρούσματα εντός του νοσοκομείου ενδέχεται να λάβουν χώρα σε παιδιατρικές και γηριατρικές πτέρυγες, έχοντας ως αποτέλεσμα μακρά νοσοκομειακή νοσηλεία, παρατεταμένη θεραπεία του ασθενή και αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα^{5,6}. Οι ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος σε βρέφη ενδέχεται να προκαλέσουν απόφραξη των αναπνευστικών οδών και να οδηγήσουν σε αναπνευστική δυσχέρεια.

Στους ιούς που ευθύνονται κυρίως για τη λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συμπεριλαμβάνονται ο RSV, οι ιοί της γρίπης Α και Β, ο ιός της παραϊνφλουέντζας τύπου 1,2 και 3 καθώς και ο αδενοϊός. Τα αναμενόμενα επίπεδα επιπολασμού του κάθε ιού περιγράφονται λεπτομερώς (με παραπομπές) στην ενότητα 13 «Αναμενόμενες τιμές».

Ο RSV και οι ιοί της παραϊνφλουέντζας παρουσιάζονται εποχιακά και ευθύνονται πρωτίστως για τη νόσο του κατώτερου αναπνευστικού σε βρέφη και παιδιά νεαρής ηλικίας. Προκαλούν συχνά βρογχιολίτιδα, λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα, βρογχίτιδα και ενίοτε πνευμονίτ^{7,8,9}.

Οι ιοί της γρίπης Α και Β προκαλούν σε παγκόσμια κλίμακα εποχιακές επιδημίες αναπνευστικών νόσων σε ενήλικες και βρέφη και το φάσμα της νόσου περιλαμβάνει από ήπια συμπτώματα του ανώτερου αναπνευστικού έως σοβαρής μορφής πνευμονία^{10,11}. Η οξεία πνευμονία σε ηλικιωμένους ή ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς ενδέχεται να αποβεί απειλητική για τη ζωή, ειδικά όταν συνδέεται με δευτεροπαθείς μικροβιακές λοιμώξεις.

Οι Λοιμώξεις που προέρχονται από αδενοϊό σχετίζονται με αναπνευστική, οφθαλμική και εντερική νόσο¹². Έχει αναφερθεί ότι οι αδενοϊοί ευθύνονται για το 5% των περιπτώσεων οξείας αναπνευστικής νόσου σε παιδιά κάτω των 4 ετών και αποτελούν συχνή αιτία φαρυγγίτιδας σε παιδιά νεαρής ηλικίας¹³.

Η ταχεία διάγνωση των ιογενών αναπνευστικών λοιμώξεων αποτελεί σημαντικό βοήθημα στη θεραπεία των ασθενών, την πρόληψη και τον έλεγχο των κρουσμάτων καθώς και την προώθηση της χρήσης φαρμακευτικής αγωγής κατά του ιού, ειδικά για λοιμώξεις προερχόμενες από ιό του αναπνευστικού συγκυτίου και γρίπης Α ^{3,14,15,16}.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της οξείας ιογενούς αναπνευστικής λοίμωξης συμπεριλαμβάνουν την άμεση εξέταση δειγμάτων όπως είναι τα ρινοφαρυγγικά υλικά αναρρόφησης με ανοσοφθορισμό και/ή οι ενζυμικοί ανοσοπροσδιορισμοί για τον εντοπισμό των ικών πρωτεϊνών, την απομόνωση και ταυτοποίηση του ιού σε μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας ή τον εντοπισμό της ανοσοαπάντησης μέσω ορολογικών μεθόδων.

Εξετάσεις ανοσοφθορισμού όπως η IMAGEN Respiratory Syncytial Virus και η IMAGEN Influenza A and B virus χρησιμοποιούνται πλέον ευρέως για την άμεση ανίχνευση των πρωτεϊνών των ιών του αναπνευστικού σε κυτταρικά παρασκευάσματα από ρινοφαρυγγικά υλικά αναρρόφησης ή από μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας^{17,18}. Οι εξετάσεις ανοσοφθορισμού, στις οποίες χρησιμοποιούνται ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα, εκτελούνται γρήγορα και επιτρέπουν την παρακολούθηση της ποιότητας του δείγματος^{2,17}. Συστήματα καλλιέργειας ενισχυμένης με φυγοκέντρηση (φιαλίδια τύπου κελύφους) επιταχύνουν την απομόνωση των ιών του αναπνευστικού στην κυτταροκαλλιέργεια και όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με εξετάσεις ανοσοφθορισμού επιτρέπουν την ταχεία διάγνωση της αναπνευστικής λοίμωξης με κυτταροκαλλιέργεια¹⁹.

Σε κάθε πληθυσμό, ενδέχεται να κυκλοφορούν ταυτόχρονα ποικίλοι ιοί του αναπνευστικού προκαλώντας λοιμώξεις με παρόμοια κλινική συμπτωματολογία. Το επίπεδο επιπολασμού δειγμάτων θετικών σε ιούς του αναπνευστικού θα ποικίλει ανάλογα με τα δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού, την εποχή, τον τύπο των δειγμάτων που εξετάστηκαν και το χρονικό διάστημα, στο οποίο συλλέχθηκαν τα δείγματα κατά την εξέλιξη της λοίμωξης. Η δοκιμασία προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης με ανοσοφθορισμό για ιούς του αναπνευστικού παρέχει μια ταχεία και οικονομικά συμφέρουσα μέθοδο για την ανίχνευση αναπνευστικών ιογενών λοιμώξεων. Στη συνέχεια μπορεί να πραγματοποιηθεί ταυτοποίηση και επιβεβαίωση των μεμονωμένων ιών χρησιμοποιώντας μονοδύναμα, επισημασμένα με FITC, μονοκλωνικά αντισώματα.

Το IMAGEN Respiratory Screen είναι μια εξέταση έμμεσου ανοσοφθορισμού, που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ιών του αναπνευστικού, όπως ο ιός του αναπνευστικού συγκυτίου, οι ιοί της γρίπης Α και Β, ο ιός της παραϊνφλουέντζας τύπου 1, 2 και 3 καθώς και ο αδενοϊός, σε κλινικά δείγματα και μονοστοιβάδες κυτταροκαλλιέργειας. Η παρουσία ενός ιού του αναπνευστικού υποδεικνύεται από το θετικό αποτέλεσμα της προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης. Κάθε ιός που παρουσιάζεται μπορεί να ταυτοποιηθεί μέσω άμεσου ανοσοφθορισμού χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια μονοκλωνικού αντισώματος συζευγμένου με FITC, ειδικά για κάθε ιό του αναπνευστικού (βλέπε ενότητες 6.1 και 11.4).

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η εξέταση IMAGEN Respiratory Screen περιέχει απόθεμα μονοκλωνικών αντισωμάτων, καθένα εκ των οποίων διαθέτει αμοικμική ειδικότητα είτε για τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου είτε για τον ιό της γρίπης Α ή Β είτε για τον ιό της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 είτε για τον αδενοϊό. Το αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης αποθέματος αντισωμάτων χρησιμοποιείται σε μέθοδο χρώσης έμμεσου ανοσοφθορισμού δύο σταδίων. Το αντιδραστήριο αρνητικού ελέγχου χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της ειδικότητας της χρώσης. Τα δείγματα χρωματίζονται με το αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης και/ή το αντιδραστήριο αρνητικού ελέγχου για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, το πλεόνασμα του μη δεσμευμένου αντιδραστηρίου αφαιρείται εκτελώντας πλύση με αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS). Τα δείγματα χρωματίζονται τότε με ένα δευτερεύον συζυγές FITC για 15 λεπτά. Το πλεόνασμα του μη δεσμευμένου αντιδραστηρίου αφαιρείται εκτελώντας πλύση με PBS. Οι χρωματισμένες περιοχές στερεώνονται και εξετάζονται στο μικροσκόπιο χρησιμοποιώντας φωτισμό επιφθορισμού. Το θετικό αποτέλεσμα υποδεικνύεται από την παρουσία του χαρακτηριστικού ενδοκυτταρικού φθορισμού ανοιχτού πράσινου χρώματος στο εσωτερικό των επιμολυσμένων κυττάρων, ο οποίος έρχεται σε αντίθεση με την ερυθρή χρώση υποβάθρου των μη μολυσμένων κυττάρων. Η ταυτοποίηση του παρόντα ιού του αναπνευστικού μπορεί να πραγματοποιηθεί με ακρίβεια χρησιμοποιώντας τα μεμονωμένα αντιδραστήρια IMAGEN (βλέπε ενότητα 11.4).

Ευχαριστίες

Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται σε αυτήν την εξέταση δημιουργήθηκαν στα:

Τμήμα ιών αναπνευστικού και εντερικού συστήματος, Δημόσιες Υπηρεσίες Υγείας, Κέντρα ελέγχου λοιμωδών νοσημάτων, Atlanta, Georgia, ΗΠΑ

Ινστιτούτο έρευνας ζωνόσων, Compton, Berkshire, Μεγάλη Βρετανία

Υπουργείο Υγείας και Ανθρώπινων Υπηρεσιών, Δημόσιες Υπηρεσίες Υγείας, Κέντρα ελέγχου λοιμωδών νοσημάτων, Atlanta, Georgia, ΗΠΑ

Παράρτημα μικροβιολογικών αντιδραστηρίων και ποιοτικού ελέγχου, Κεντρικό εργαστήριο δημόσιας υγείας, Colindale, Λονδίνο, Μεγάλη Βρετανία. Ίδρυμα ερευνών Ουάσιγκτον, Ουάσιγκτον, ΗΠΑ

Αν και κάποια από τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στην επινόνηση της εξέτασης δημιουργήθηκαν στα Κέντρα ελέγχου λοιμωδών νοσημάτων (CDC), το γεγονός αυτό δε θα πρέπει να ερμηνεύεται ως υποστήριξη της εξέτασης με οποιονδήποτε τρόπο από τα Κέντρα ελέγχου λοιμωδών νοσημάτων ή το Υπουργείο Υγείας και Ανθρώπινων Υπηρεσιών των ΗΠΑ.

4. ΟΡΙΣΜΟΙ

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

[REF]	Αριθμός
[IVD]	Ιατρική συσκευή για in vitro διαγνωστική χρήση
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Όριο θερμοκρασίας
	Reǵievlemo eraǵjy cǵa «m» eesreǵy
[LOT]	Κωδικός παρτίδας
	Χρήση έως
	Κατασκευαστής

5. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

8 °C
 100 – Κάθε κιτ περιέχει επαρκή υλικά για 100 άμεσα δείγματα ή παρασκευάσματα κυτταροκαλλιέργειας. Η διάρκεια ζωής του κιτ αναγράφεται στην ετικέτα της εξωτερικής συσκευασίας.

5.1. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ IMAGEN RESPIRATORY SCREEN



φυλλάδιο οδηγιών χρήσης.

5 αντικειμενοφόροι πλάκες 14 υποδοχών συνδυασμένου θετικού και αρνητικού προτύπου ελέγχου. Κάθε αντικειμενοφόρος πλάκα αποτελείται από 7 υποδοχές που περιέχουν μονιμοποιημένα σε ακετόνη κύτταρα, επιμολυσμένα είτε με τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου (στέλεχος από κλινικά δείγματα) είτε με τον ιό της γρίπης Α (στέλεχος CDC V7-002) ή Β (στέλεχος CDC V4-004) είτε με τον ιό της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 (στέλεχχ CDC V6-004, CDC V7-003 και CDC V5-003 αντίστοιχα) είτε με τον αδενοϊό (στέλεχος CDC V5-002), μία υποδοχή ειδικά για κάθε ιό και 7 υποδοχές που περιέχουν μονιμοποιημένα σε ακετόνη μη μολυσμένα κύτταρα (υποδοχές αρνητικού προτύπου ελέγχου).

Μία φιάλη καθενός από τα παρακάτω, εκτός και αν υπάρχει διαφορετική επισήμανση:

[MOUNTING FLUID]

3 x 3mL υγρού στερέωσης. Το υγρό στερέωσης περιέχει αναστολέα φωτολεύκανσης σε γλυκερόλη (pH 10,0).

[SCREENING REAGENT] 4,4mL αντιδραστηρίου προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης. Το αντιδραστήριο αποτελείται από απόθεμα κεκαθαρμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικίου ειδικά για τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου, τον ιό της γρίπης Α και Β, τον ιό της παραϊνφλουέντζας τύπου 1, 2 και 3 καθώς και τον αδενοϊό. Το αντιδραστήριο παρασκευάζεται σε σταθεροποιημένο ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης, το οποίο περιέχει 15mmol/L αζίδιου του νατρίου ως συντηρητικό.

Έχει αποδειχτεί ότι τα μονοκλωνικά αντισώματα, που χρησιμοποιούνται στο αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης του IMAGEN Respiratory Screen, αντιδρούν με τους διατηρημένους επίτοπους των ικών πρωτεϊνών που υφίστανται στους αντίστοιχους ιούς, όπως περιγράφεται παρακάτω:

Ιός	Ειδικότητα μονοκλωνικού αντισώματος
Ιός του αναπνευστικού συγκυτίου	Νουκλεοπρωτεΐνη και πρωτεΐνη σύντηξης
Ιός της γρίπης Α	Νουκλεοπρωτεΐνη και πρωτεΐνη μεσοκυττάριας ουσίας
Ιός της γρίπης Β	Νουκλεοπρωτεΐνη και πρωτεΐνη αμοσυγκολλητίνης
Ιός της παραϊνφλουέντζας 1	Πρωτεΐνη σύντηξης
Ιός της παραϊνφλουέντζας 2	Πρωτεΐνη αμοσυγκολλητίνης
Ιός της παραϊνφλουέντζας 3	Πρωτεΐνη αμοσυγκολλητίνης
Αδενοϊός	Πρωτεΐνη εξονίου*

*Έχει αποδειχτεί ότι το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα ανιχνεύει όλα τα στελέχη του αδενοϊού, τα οποία σχετίζονται συνήθως με λοίμωξη του αναπνευστικού. Τα στελέχη που εξετάστηκαν συμπεριλάμβαναν τον αδενοϊό 1 – 41.

[CONTROL –]

2,6mL αντιδραστηρίου αρνητικού ελέγχου. Το αντιδραστήριο αποτελείται από απόθεμα μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικίου που δεν εμφανίζουν δράση έναντι του ιού. Το αντιδραστήριο παρασκευάζεται σε σταθεροποιημένο ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης, το οποίο περιέχει 15mmol/L αζίδιου του νατρίου ως συντηρητικό.

[FITC CONJUGATE] 2 x 3,5mL αντισώματος αντι-ποντικίου συζευγμένου με FITC. Το αντιδραστήριο αποτελείται από τμήμα F (a b´) 2 ανοσοσφαιρινών κονίκλου αντι-ποντικίου συζευγμένο με FITC, αραιωμένο σε αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά, το οποίο περιέχει πρωτεΐνες σταθεροποίησης, κυανή χρωστική του Evans ως ουσία επίχρωσης και 15mmol/L αζιδίου του νατρίου ως συντηρητικό.

5.2. Π Α Ρ Α Σ Κ Ε Υ Η , Α Π Ο Θ Η Κ Ε Υ Σ Η Κ Α Ι Ε Π Α Ν Α Χ Ρ Η Σ Ι Μ Ο Π Ο Ι Η Σ Η Τ Ω Ν Σ Υ Σ Τ Α Τ Ι Κ Ω Ν Τ Ο Υ Κ Ι Τ

Προκειμένου να εξασφαλίζεται η βέλτιστη απόδοση του κιτ, τα αχρησιμοποιητά συστατικά του θα πρέπει να αποθηκεύονται σύμφωνα με τις παρακάτω οδηγίες:

5.3. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΙ ΠΛΑΚΕΣ ΘΕΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ – [POSITIVE AND NEGATIVE CONTROL SLIDE]

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες παρέχονται ξεχωριστά σε σφραγισμένα αλουμινένια σκαουλάκια με άζωτο. Αποθηκεύστε τις αχρησιμοποίητες αντικειμενοφόρους πλάκες στους 2-8°C. Πριν από το άνοιγμα της συσκευασίας, η αντικειμενοφόρος πλάκα θα πρέπει να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά.

Χρωματίστε την αντικειμενοφόρο πλάκα αμέσως μετά το άνοιγμα.

5.4. ΥΓΡΟ ΣΤΕΡΕΩΣΗΣ – [MOUNTING FLUID]

Έτοιμο προς χρήση. Αποθηκεύστε το αχρησιμοποίητο υγρό στερέωσης στους 2-8°C. Πριν από τη χρήση, το υγρό στερέωσης θα πρέπει να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά.

5.5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ – [SCREENING REAGENT]

Έτοιμο προς χρήση. Αποθηκεύστε το αχρησιμοποίητο αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης στους 2-8°C. Πριν από τη χρήση, το αντιδραστήριο θα πρέπει να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά.

5.6. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ – [CONTROL –]

Έτοιμο προς χρήση. Αποθηκεύστε το αχρησιμοποίητο αντιδραστήριο αρνητικού ελέγχου στους 2-8°C. Πριν από τη χρήση, το αντιδραστήριο θα πρέπει να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά.

5.7. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ ΣΥΖΥΓΟΥΣ FITC ΑΝΤΙ-ΠΟΝΤΙΚΙΟΥ – [FITC CONJUGATE]

Έτοιμο προς χρήση. Αποθηκεύστε το αχρησιμοποίητο αντιδραστήριο συζυγούς FITC αντι-ποντικίου σε σκοτεινό χώρο στους 2-8°C. Πριν από τη χρήση, το αντιδραστήριο θα πρέπει να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 5 λεπτά.

6. ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

6.1. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Φρέσκια ακετόνη (για μονιμοποίηση).

Αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS) pH 7,5 για την πλύση των χρωματισμένων δειγμάτων και την παρασκευή δειγμάτων.

Αντιδραστήρια IMAGEN για επιβεβαίωση των θετικών αποτελεσμάτων της προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης, τα οποία διατίθενται από την τοπική θυγατρική ή το διανομέα της Oxoid:

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

6.2. ΕΞΑΡΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Τα παρακάτω προϊόντα προορίζονται για χρήση σε συνδυασμό με το IMAGEN Respiratory Screen. Για περισσότερες πληροφορίες, επικοινωνήστε με την τοπική διανομέα της.

Γυάλινες αντικειμενοφόροι πλάκες μικροσκοπίου επικαλυμμένες με Teflon, με ξεχωριστές υποδοχές διαμέτρου 6mm (100 αντικειμενοφόροι πλάκες ανά κουτί), οι οποίες διατίθενται από την τοπική διανομέα της (κωδικός αρ. S611430-6).

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

7. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Απαιτείται ο παρακάτω εξοπλισμός:

Πιπέτες ακρίβειας και αναλώσιμα ρύγχη για χορήγηση 20μL και 25μL

Λουτρό πλύσης

Καλυπτρίδες κατάλληλες για την κάλυψη είτε ξεχωριστών υποδοχών διαμέτρου 6mm είτε αντικειμενοφόρων πλακών 14 υποδοχών

Μη φθορίζον έλαιο εμβάπτισης

Μικροσκόπιο επιφθορισμού με σύστημα φίλτρων για FITC (μήκος κύματος μέγιστης διέγερσης 490nm, μήκος κύματος μέσης εκπομπής 520nm) και μεγέθυνση 200-500 φορές

Θάλαμος επώασης στους 37°C

Φυγόκεντρος χαμηλής ταχύτητας

Για άμεσα δείγματα

Εξαγωγές βλέννας (μόνο για ρινοφαρυγγικά δείγματα).

Για επιβεβαίωση με καλλιέργεια

Αποστειρωμένοι στυλεοί, μέσο μεταφοράς ιού (VTM) και δοχείο κατάλληλα για τη συλλογή, τη μεταφορά και την καλλιέργεια του ιού του αναπνευστικού συγκυτίου, του ιού της γρίπης Α και Β, του ιού της παραϊνφλουέντζας 1, 2 και 3 καθώς και του αδενοϊού.

Συνιστώμενες κυτταρικές σειρές για καλλιέργεια και απομόνωση του ιού του αναπνευστικού συγκυτίου, του ιού της γρίπης Α και Β, του ιού της παραϊνφλουέντζας τύπου 1,2 και 3 καθώς και του αδενοϊού.

8. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

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

8.1. ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

8.1.1 Τα αντιδραστήρια του IMAGEN Respiratory Screen περιέχουν <0.1% αζίδιου του νατρίου, το οποίο είναι δηλητηριώδες ουσία. Το αζίδιο του νατρίου ενδέχεται να αντιδράσει με υδραυλικές σωληνώσεις χαλκού και μολύβδου, σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Απορρίψτε πάντοτε υλικά που περιέχουν αζίδιο, ξεπλένοντας με άφθονο νερό.

8.1.2 Έχει αποδειχτεί ότι τα αντιγόνα ιού στις αντικειμενοφόρους πλάκες προτύπου ελέγχου δεν είναι μολυσματικά σε κυτταροκαλλιέργειες. Ωστόσο, ο χειρισμός και η απόρριψη της αντικειμενοφόρου πλάκας θα πρέπει να εκτελούνται λαμβάνοντας υπόψη ότι είναι δυνητικός μολυσματική.

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

8.1.4 Θα πρέπει να δίνεται προσοχή κατά τη χρήση του υγρού στερέωσης, καθώς ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμό του δέρματος. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.

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

8.1.6 Μην αναρροφάτε με πιπέτα υλικά με το στόμα.

8.1.7 Κατά το χειρισμό κλινικών δειγμάτων και ικών καλλιεργιών να φοράτε γάντια μιας χρήσης και να πλένετε πάντοτε τα χέρια σας μετά την εργασία με μολυσματικά υλικά.

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

8.1.9 Διατίθενται κατόπιν αιτήματος δελτία δεδομένων ασφαλείας για επαγγελματίες χρήστες.

8.2. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

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

8.2.2 Τα αντιδραστήρια παρέχονται σε σταθερές συγκεντρώσεις εργασίας. Η απόδοση της εξέτασης θα επηρεαστεί δυσμενώς σε περίπτωση που τα αντιδραστήρια υφίστανται τροποποιήσεις ή αποθηκεύονται σε συνθήκες διαφορετικές από εκείνες που αναλύονται στην ενότητα 5.

8.2.3 Ανάλογα με τις ανάγκες, παρασκευάστε φρέσκο αλατούχο διάλυμα ρυθμισμένο με φωσφορικά (PBS) την ημέρα χρήσης.

8.2.4 Η πλύση με PBS είναι απαραίτητη. Η χρήση άλλων διαλυμάτων πλύσης όπως νερό βρύσης ή απεσταγμένο νερό θα υποβαθμίσει τα αποτελέσματα της εξέτασης.

8.2.5 Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων θα πρέπει να αποφεύγεται.

8.2.6 Τα αντιδραστήρια δεν πρέπει να καταψύχονται.

9. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η συλλογή και παρασκευή δειγμάτων κρίνεται εξαιρετικά σημαντική στη διάγνωση αναπνευστικής ιογενούς λοίμωξης μέσω άμεσου ανοσοφθορισμού και μεθόδων κυτταροκαλλιέργειας. Τα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται από την προσβεβλημένη περιοχή κατά την κορύφωση αποβολής του ιού, έτσι ώστε να περιέχουν όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ποσότητα μολυσμένου υλικού, και να παρασκευάζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να διασφαλίζεται είτε η διατήρηση ακέραιων κυττάρων που δε φέρουν προσκολλημένη βλέννα κ.λπ. με σκοπό την άμεση μικροσκοπία των δειγμάτων είτε η προφύλαξη της βιωσιμότητας των ιών σε δείγματα που πρόκειται να καλλιεργηθούν.

9.1. ΡΙΝΟΦΑΡΥΓΓΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΡΡΟΦΗΣΗΣ/ ΕΚΚΡΙΣΙΣ

Συλλογή

Συλλέξτε τα δείγματα από τη ρινοφαρυγγική περιοχή σε εξαγωγέα βλέννας μέσω σωλήνα σίτισης μεγέθους 8. Ο εξαγωγέας βλέννας και ο σωλήνας θα πρέπει να μεταφέρονται το δυνατόν ταχύτερα, να διατηρούνται στους 2-8°C και να αποστέλλονται στο εργαστήριο για επεξεργασία. Οι μέθοδοι διαχωρισμού των κυττάρων είναι απαραίτητες για τη χρώση άμεσου ανοσοφθορισμού. Το δείγμα ή το υπερκείμενο μέρος που λαμβάνεται μέσω μεθόδων διαχωρισμού κυττάρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ενοφθαλμισμό της καλλιέργειας του ιού.

Διαχωρισμός κυττάρων

Εάν απαιτείται, προσθέστε 2mL αλατούχου διαλύματος ρυθμισμένου με φωσφορικά PBS στο δείγμα πριν τη φυγοκέντρηση, για να μειώσετε το ιξώδες και να αραιώσετε τη βλέννα. Προβείτε σε φυγοκέντρηση του εξαγωγέα βλέννας σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 10 λεπτά στα 380g. Αφαιρέστε το υπερκείμενο μέρος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για κυτταροκαλλιέργεια.

ταυτόχρονα διατηρείτε υψηλή κυτταρική πυκνότητα. Τοποθετήστε 25μl του επανεναιωρημένου κυτταρικού ιζήματος στην περιοχή της υποδοχής επάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Είναι σημαντικό να προετοιμάζονται διπλές υποδοχές για κάθε δείγμα που πρόκειται να εξεταστεί χρησιμοποιώντας το IMAGEN Respiratory Screen: μία υποδοχή για το αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης και μία υποδοχή για το αντιδραστήριο αρνητικού ελέγχου (βλέπε ενότητα 10.8).

Αφήστε το δείγμα να στεγνώσει πλήρως με αέρα σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και προβείτε σε μονιμοποίηση με φρέσκια ακετόνη σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) για 10 λεπτά. Σε περίπτωση που το δείγμα δε χρωματιστεί αμέσως, αποθηκεύστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες ολονυκτίως στους 4°C ή καταψύξτε τις στους -20°C για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για ακόλουθη εξέταση με σκοπό την ειδική ταυτοποίηση ιού, απαιτείται επιπρόσθετη αντικειμενοφόρος πλάκα που να περιέχει τουλάχιστον 8 υποδοχές ανά δείγμα (βλέπε ενότητα 11.4).

9.2. ΕΝΟΦΘΑΛΜΙΣΜΟΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

Ενοφθαλμισμός κυτταροκαλλιέργειών

Τα δείγματα που συλλέγονται για τη διάγνωση λοιμώξεων προερχόμενων από τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου, τον ιό της γρίπης Α και Β, τον ιό της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 καθώς και τον αδενοϊό, θα πρέπει να ενοφθαλμίζονται στις κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιούνται συνήθως στο εργαστήριο, σύμφωνα με τις καθιερωμένες εργαστηριακές μεθόδους. Οι κυτταροκαλλιέργειες θα πρέπει να εξετάζονται τακτικά για τυχόν εμφάνιση κυτταροπαθολογικής αντίδρασης (CPE), όπως επίσης θα πρέπει να διεξάγονται σε τακτά χρονικά διαστήματα εξετάσεις αιμοσυγκόλλησης. Κύτταρα μπορούν να συλλεχθούν από οποιαδήποτε κυτταροκαλλιέργεια θετική σε αιμοσυγκόλληση ή κυτταροκαλλιέργεια που εμφανίζει CPE και στη συνέχεια να εξεταστον για την παρουσία του ιού του αναπνευστικού συγκυτίου, του ιού της γρίπης Α και Β, του ιού της παραϊνφλουέντζας τύπου 1, 2 ή 3 καθώς και του αδενοϊού.

Παρασκευή των αντικειμενοφόρων πλάκων

Εύστε τη στρώση κυττάρων στο υγρό μέσο καλλιέργειας με χρήση αποστειρωμένης πιπέτας. Προβείτε σε καθίζηση των κυττάρων με φυγοκέντρηση στα 200g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και αφαιρέστε το υπερκείμενο μέρος.

Εκτελέστε πλύση των κυττάρων προβαίνοντας σε επανεναίωση του κυτταρικού ιζήματος με PBS (βλέπε ενότητα 6.1) και επαναλάβετε τη φυγοκέντρηση. Αφαιρέστε το υπερκείμενο μέρος και εκτελέστε επανεναίωση του κυτταρικού ιζήματος σε μικρό όγκο (250μl ανά σελήνα καλλιέργειας) φρέσκου PBS, για να διατηρηθεί υψηλή κυτταρική πυκνότητα.

Τοποθετήστε 25μl διαιρεμένης ποσότητας του κυτταρικού εναιωρήματος στον κατάλληλο αριθμό μεμονωμένων υποδοχών στις αντικειμενοφόρους πλάκες. Αφήστε το να στεγνώσει πλήρως με αέρα και μονιμοποιήστε χρησιμοποιώντας φρέσκια ακετόνη για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C). Σε περίπτωση που το δείγμα δε χρωματιστεί αμέσως, αποθηκεύστε ολονυκτίως στους 4°C ή καταψύξτε στους -20°C για μεγαλύτερες περιόδους.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Είναι σημαντικό να προετοιμάζονται διπλές υποδοχές για κάθε δείγμα που πρόκειται να εξεταστεί χρησιμοποιώντας το IMAGEN Respiratory Screen: μία υποδοχή για το αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης και μία υποδοχή για το αντιδραστήριο αρνητικού ελέγχου (βλέπε ενότητα 10.8).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για ακόλουθη εξέταση με σκοπό την ειδική ταυτοποίηση ιού, απαιτείται επιπρόσθετη αντικειμενοφόρος πλάκα που να περιέχει τουλάχιστον 8 υποδοχές ανά δείγμα (βλέπε ενότητα 11.4).

10. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

ΠΑΡΑΚΑΛΟΥΜΕ ΑΝΑΤΡΕΞΤΕ ΣΤΗΝ ΕΝΟΤΗΤΑ 8.2 ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΠΡΟΤΟΥ ΕΚΤΕΛΕΣΤΕ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ.

10.1. ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Για κάθε δείγμα απαιτούνται δύο υποδοχές μονιμοποιημένου κυτταρικού παρασκευάσματος. Στη μία υποδοχή της αντικειμενοφόρου πλάκας εξέτασης προσθέστε 25μl αντιδραστήριου προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης και στην άλλη υποδοχή 25μl αντιδραστηρίου αρνητικού ελέγχου. Στην αντικειμενοφόρο πλάκα προτύπου ελέγχου προσθέστε σε κάθε υποδοχή 20μl αντιδραστηρίου προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης. Βεβαιώσετε ότι τα αντιδραστήρια καλύπτουν όλη την περιοχή κάθε υποδοχής.

10.2. ΠΡΩΤΗ ΕΠΩΑΣΗ

Επωάστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με το αντιδραστήριο σε **θάλαμο ελεγχόμενης υγρασίας για 15 λεπτά** στους **37°C**. Το αντιδραστήριο **δε θα πρέπει** να στεγνώσει επάνω στο δείγμα, καθώς με αυτόν τον τρόπο θα προκληθεί εμφάνιση μη ειδικής χρώσης.

10.3. ΠΛΥΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΥ ΠΛΑΚΑΣ

Ξεπλύνετε απαλά με PBS χρησιμοποιώντας μια εύκαμπτη φιάλη πλύσης . Μην εστιάζετε τη ροή PBS απευθείας στα βοθρία. Γείρετε την αντικειμενοφόρο προς τα κάτω και προωθήστε τη ροή PBS κατά μήκος της αντικειμενοφόρου πάνω από τα βοθρία, επιτρέποντας στο PBS να κυλήσει από την κάτω αριστερή πλευρά της αντικειμενοφόρου. Πλύνετε απαλά την αντικειμενοφόρο σε ανακινούμενο λουτρό που περιέχει PBS για 5 λεπτά. Αποστραγγίστε το PBS και αφήστε την αντικειμενοφόρο να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C).

10.4. ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΣΥΖΥΓΙΟΥΣ FITC ΑΝΤΙ-ΠΟΝΤΙΚΙΟΥ

Προσθέστε 25μl αντιδραστηρίου FITC σε κάθε υποδοχή δείγματος και 20μl αντιδραστηρίου FITC σε κάθε υποδοχή της αντικειμενοφόρου πλάκας προτύπου ελέγχου. Βεβαιωθείτε ότι το αντιδραστήριο καλύπτει όλη την περιοχή κάθε υποδοχής. Σε περίπτωση που χρησιμοποιούνται αντικειμενοφόροι πλάκες προτύπου ελέγχου με υποδοχές διαμέτρου μικρότερης των 6mm, συνιστάται η χρήση 20μl αντιδραστηρίου.

10.5. ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΠΩΑΣΗ

Επωάστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με το αντιδραστήριο FITC σε **θάλαμο ελεγχόμενης υγρασίας για 15 λεπτά** στους **37°C**. Το αντιδαστήριο **δε θα πρέπει** να στεγνώσει επάνω στο δείγμα, καθώς με αυτόν τον τρόπο θα προκληθεί εμφάνιση μη ειδικής χρώσης.

10.6. ΠΛΥΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΥ ΠΛΑΚΑΣ

Ξεπλύνετε απαλά με PBS χρησιμοποιώντας μια εύκαμπτη φιάλη πλύσης . Μην εστιάζετε τη ροή PBS απευθείας στα βοθρία. Γείρετε την αντικειμενοφόρο προς τα κάτω και προωθήστε τη ροή PBS κατά μήκος της αντικειμενοφόρου πάνω από τα βοθρία, επιτρέποντας στο PBS να κυλήσει από την κάτω αριστερή πλευρά της αντικειμενοφόρου. Πλύνετε απαλά την αντικειμενοφόρο σε ανακινούμενο λουτρό που περιέχει PBS για 5 λεπτά. Αποστραγγίστε το PBS και αφήστε την αντικειμενοφόρο να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C).

10.7. ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΥΓΡΟΥ ΣΤΕΡΕΩΣΗΣ

Προσθέστε μία σταγόνα υγρού στερέωσης στο κέντρο κάθε υποδοχής και τοποθετήστε καλυπτρίδα επάνω στο υγρό στερέωσης και το δείγμα, εξασφαλίζοντας ότι δεν έχουν παγιδευτεί φυσαλίδες αέρα.

10.8. ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΥ ΠΛΑΚΑΣ

Εξετάστε σχολαστικά τις περιοχές των υποδοχών που περιέχουν το χρωματισμένο δείγμα, χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο επιφθορισμού. Ο φθορισμός, όπως περιγράφεται στην ενότητα 11, θα πρέπει να είναι ορατός σε μεγέθυνση x200-x500 φορές. (Για άριστα αποτελέσματα, οι αντικειμενοφόροι πλάκες θα πρέπει να εξετάζονται αμέσως μετά τη χρώση. Ωστόσο, μπορούν να αποθηκευτούν στους 2-8°C, σε σκοτεινό χώρο, για έως και 24 ώρες).

Εάν ληφθεί θετικό αποτέλεσμα προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης (βλέπε ενότητα 11.2), η ειδική ταυτοποίηση του παρόντα ιού μπορεί να πραγματοποιηθεί σε πρόσθετο παρασκευάσμα αντικειμενοφόρου πλάκας 8 υποδοχών (βλέπε ενότητα 11), χρησιμοποιώντας τα μεμονωμένα αντιδραστήρια άμεσου ανοσοφθορισμού IMAGEN που αναφέρονται στην ενότητα 6.1.

11. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

11.1. ΥΛΙΚΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

11.1.1 Θετικές υποδοχές αντικειμενοφόρου πλάκας προτύπου ελέγχου

Όταν χρωματίζονται και εξετάζονται όπως περιγράφεται στην ενότητα 10, οι θετικές υποδοχές στην αντικειμενοφόρο πλάκα προτύπου ελέγχου θα πρέπει να εμφανίζουν κύτταρα με ενδοκυτταρικό, κυτταροπλασματικό και/ή πυρηνικό φθορισμό ανοιχτού πράσινου χρώματος, ο οποίος αντιστέται στο υπόβαθρο κάποιας ουσίας με ερυθρά επίχρωση. Οι αντικειμενοφόροι πλάκες θετικού προτύπου ελέγχου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται, προκειμένου να εξακριβώνεται η ικανοποιητική εκτέλεση της διαδικασίας χρώσης.

11.1.2 Αρνητικές υποδοχές αντικειμενοφόρου πλάκας προτύπου ελέγχου

Όταν χρωματίζονται και εξετάζονται όπως περιγράφεται στην ενότητα 10, οι αρνητικές υποδοχές στην αντικειμενοφόρο πλάκα προτύπου ελέγχου δε θα πρέπει να εμφανίζουν κύτταρα με ενδοκυτταρκό φθορισμό ανοιχτού πράσινου χρώματος. Μόνο η ερυθρά επίχρωση υποβάθρου θα πρέπει να είναι ορατή.

11.2. ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

11.2.1 Εμφάνιση κυττάρων επιμολυσμένων με ιό

Τα χρωματισμένα επιμολυσμένα κύτταρα θα εμφανίζουν κυτταροπλασματικό και/ή πυρηνικό φθορισμό ανοιχτού πράσινου χρώματος. Τα μη μολυσμένα κύτταρα χρωματίζονται κόκκινα με επίχρωση κυανού χρώματος του Evans.

11.2.2 Ερμηνεία

Πραγματοποιείται θετική διάγνωση σε περίπτωση που ένα ή περισσότερα κύτταρα στο μονιμοποιημένο, χρωματισμένο δείγμα εμφανίζουν το τυπικό σχήμα φθορισμού που περιγράφεται στην ενότητα 11.2.1.

Πραγματοποιείται αρνητική διάγνωση όταν τα μονιμοποιημένα, χρωματισμένα δείγματα δεν επιδεικνύουν φθορισμό με το αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης.

Για άμεσα χρωματισμένα δείγματα ρινοφαρυγγικών υλικών αναρρόφησης, θα πρέπει να παρατηρούνται τουλάχιστον 20 μl μολυσμένα κύτταρα αναπνευστικού (κυλινδραιοειδούς) επιθηλίου εντός της περιοχής κάθε υποδοχής της αντικειμενοφόρου πλάκας προτού αναφερθεί αρνητικό αποτέλεσμα. Στην περίπτωση που υφίσταται ανεπαρκής αριθμός κυττάρων, βλέπε ενότητα 11.2.3.

11.2.3 Ανεπαρκή κύτταρα

Εάν στην αντικειμενοφόρο πλάκα εμφανίζεται ανεπαρκής αριθμός κυττάρων, τότε το υπόλοιπο του κλινικού δείγματος θα πρέπει να υποβληθεί σε φυγοκέντρηση στα 380g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C). Εκτελέστε επανεναίωση σε μικρότερο όγκο (περίπου 50μl) PBS πριν την εκ νέου διανομή (25μl) στην περιοχή κάθε υποδοχής. Εναλλακτικά, θα πρέπει να ζητείται κλινικό δείγμα επανάληψης.

11.2.4 Ποιοτικός έλεγχος

Μία αντικειμενοφόρος πλάκα θετικού και μία αρνητικού προτύπου ελέγχου θα πρέπει να χρωματίζονται και να εξετάζονται κάθε φορά που χρησιμοποιούνται τα αντιδραστήρια του IMAGEN Respiratory Screen.

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες προτύπου ελέγχου που παρέχονται με το kit εξυπηρετούν ως κατάλληλο πρότυπο ελέγχου, προκειμένου να καθοριστεί η ορθή εκτέλεση της μεθόδου χρώσης και η αντιδραστικότητα του αντιδραστηρίου με τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου, τον ιό της γρίπης Α και Β, τον ιό της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 και τον αδενοϊό σε μολυσμένα κύτταρα.

11.2.5 Καταγραφή των αποτελεσμάτων

Συνιστώνται οι παρακάτω κατευθυντήριες οδηγίες για την καταγραφή των αποτελεσμάτων:

Θετικό αποτέλεσμα όπως ορίζεται στην 11.2.2:

Πιθανώς θετικό σε έναν ή περισσότερους από τους παρακάτω ιούς: ιός του αναπνευστικού συγκυτίου, ιός της γρίπης Α και Β, ιός της παραϊνφλουέντζας τύπου 1, 2 ή 3 και αδενοϊός. Θα ακολουθήσει απομόνωση σε καλλιέργεια και ειδική ταυτοποίηση. Για την ειδική ταυτοποίηση ανατρέξτε στην ενότητα 11.4.

Αρνητικό αποτέλεσμα όπως ορίζεται στην 11.2.2:

Πιθανώς αρνητικό για τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου, τον ιό της γρίπης Α και Β, τον ιό της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 και τον αδενοϊό. Θα ακολουθήσει επιβεβαίωση με καλλιέργεια.

11.3. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

11.3.1 Εμφάνιση κυττάρων μολυσμένων με ιό

Τα μολυσμένα κύτταρα θα εμφανίζουν ενδοκυτταρικό, πυρηνικό και/ή κυτταροπλασματικό φθορισμό ανοιχτού πράσινου χρώματος και θα πρέπει να καταχωρούνται ως θετικά. Τα μη μολυσμένα κύτταρα θα επιχρωματίζονται κόκκινα, με επίχρωση κυανού χρώματος του Evans.

11.3.2 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Πραγματοποιείται θετική διάγνωση όταν τουλάχιστον ένα μονιμοποιημένο, χρωματισμένο κύτταρο εμφανίζει μετά τη χρώση το σχήμα φθορισμού που περιγράφεται στην ενότητα 11.3.1.

Επισημαίνεται αρνητικό αποτέλεσμα όταν τα μονιμοποιημένα, χρωματισμένα δείγματα δεν επιδεικνύουν φθορισμό με τα αντιδραστήρια μετά τη χρώση.

Θα πρέπει να είναι ορατά τουλάχιστον 50 μl μολυσμένα κύτταρα της εξεταζόμενης κυτταροκαλλιέργειας, εντός της περιοχής κάθε υποδοχής της αντικειμενοφόρου πλάκας, προτού αναφερθεί αρνητικό αποτέλεσμα. Στην περίπτωση που υφίσταται ανεπαρκής αριθμός κυττάρων, βλέπε ενότητα 11.3.4.

11.3.3 Καταγραφή των αποτελεσμάτων

Συνιστώνται οι παρακάτω κατευθυντήριες οδηγίες για την καταγραφή των αποτελεσμάτων.

Θετικό αποτέλεσμα όπως ορίζεται στην 11.3.2:

Θετικό σε έναν ή περισσότερους από τους παρακάτω ιούς: ιός του αναπνευστικού συγκυτίου, ιός της γρίπης Α και Β, ιός

της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 και αδενοϊός. Θα ακολουθήσει ειδική ταυτοποίηση. Για την ειδική ταυτοποίηση ανατρέξτε στην ενότητα 11.4.

Αρνητικό όπως ορίζεται στην 11.3.2:

Αρνητικό για τον ιό του αναπνευστικού συγκυτίου, τον ιό της γρίπης Α και Β, τον ιό της παραϊνφλουέντζας 1, 2 ή 3 και τον αδενοϊό.

11.3.4 Ανεπαρκή κύτταρα

Εάν στο παρασκευάσμα της αντικειμενοφόρου πλάκας εμφανιστεί ανεπαρκής αριθμός κυττάρων, τότε το υπόλοιπο του δείγματος κυτταροκαλλιέργειας θα πρέπει να υποβληθεί σε φυγοκέντρηση στα 200g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C). Εκτελέστε επανεναίωση σε μικρότερο όγκο (περίπου 50μl) PBS πριν την εκ νέου διανομή (25μl) στην περιοχή κάθε υποδοχής.

Εναλλακτικά, θα πρέπει να πραγματοποιείται εκ νέου ενοφθαλμισμός του δείγματος επανάληψης σε νωπές μονοστράβδες κυτταροκαλλιέργειας και να επαναλαμβάνεται η καλλιέργεια του ιού.

11.4. ΕΙΔΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ

Η ειδική ταυτοποίηση του υψιστάμενου ιού του αναπνευστικού μπορεί να πραγματοποιηθεί επιβεβαιώνοντας τα θετικά αποτελέσματα με χρήση της εξέτασης άμεσου ανοσοφθορισμού IMAGEN (βλέπε ενότητα 6.1, σχετικά με την παρασκευή των αντικειμενοφόρων πλακών βλέπε ενότητα 9).

12. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

12.1. Χρησιμοποιείτε μόνο το υγρό στερέωσης που παρέχεται.

12.2. Αν και τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται σ’αυτήν την εξέταση έχουν καλλιεργηθεί έναντι στελεχών πρωτοτύπου και έχουν επιλεγεί σε σχέση με την αντιδραστικότητα τους έναντι διατηρημένου επιτόπου, ενδέχεται να μην ανιχνεύσουν στελέχη ιού, τα οποία έχουν υποβληθεί σε αντιγονική μεταλλαγή ως προς τη δομή του επιτόπου-στόχου, ή νέα στελέχη του ιού.

12.3. Το αντιδραστήριο προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης και το αντιδραστήριο αρνητικού ελέγχου ενδέχεται να οδηγήσουν σε μη ειδική χρώση στελεχών του *Staphylococcus aureus* που περιέχουν πρωτεΐνη Α. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη μη ανοσο-αλληλοαντίδραση της πρωτεΐνης Α με την FC περιοχή των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Η παρατήρηση αυτή έχει αναφερθεί για άλλους προσδιορισμούς μέσω φθορισμού που βασίζονται σε μονοκλωνικά και πολυκλωνικά αντισώματα²⁰.

12.4. Η όψη της ληφθείσας εικόνας φθορισμού ενδέχεται να ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του μικροσκοπίου και την πηγή φωτός που χρησιμοποιείται.

12.5. Συνιστάται η χρήση 25μl αντιδραστηρίου για την κάλυψη περιοχής υποδοχής με διάμετρο 6mm. Μείωση του συγκεκριμένου όγκου ενδέχεται να καταστήσει δύσκολη την κάλυψη τη περιοχής του δείγματος και να ελαττώσει την ευαισθησία.

12.6. Όλα τα αντιδραστήρια παρέχονται σε σταθερές συγκεντρώσεις εργασίας. Η απόδοση της εξέτασης θα επηρεαστεί δυσμενώς σε περίπτωση που τα αντιδραστήρια τροποποιούνται με οποιονδήποτε τρόπο ή δεν αποθηκεύονται υπό τις συνιστώμενες συνθήκες, όπως επισημαίνεται στην ενότητα 5.

12.7. Το IMAGEN Respiratory Screen δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ειδική ταυτοποίηση των ιών του αναπνευστικού. Για την ειδική ταυτοπίηση, τα θετικά δείγματα θα πρέπει να υποβάλλονται σε περαιτέρω εξέταση χρησιμοποιώντας τα μεμονωμένα αντιδραστήρια άμεσου ανοσοφθορισμού IMAGEN (βλέπε ενότητα 6).

12.8. Η αποτυχία ανίχνευσης κάποιου ιού με άμεσες εξετάσεις ή επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας ενδέχεται να οφείλεται σε παράγοντες όπως η συλλογή του δείγματος σε ακατάλληλο χρονικό διάστημα της νόσου, η ανορθόδοξη δειγματοληψία και/ή χειρισμός του δείγματος, η αποτυχία της κυτταροκαλλιέργειας κ.λπ. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την πιθανότητα ιογενούς Λοίμωξης.

12.9. Τα αποτελέσματα της εξέτασης θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τις διαθέσιμες πληροφορίες από επιδημιολογικές μελέτες, την κλινική εκτίμηση του ασθενή και τις υπόλοιπες διαγνωστικές διαδικασίες.

12.10. Λόγω της κατασκευής της αντικειμενοφόρου ελέγχου, ενδέχεται να προκύψει περιστασιακή ανάμειξη υλικών (δηλ. ορισμένα θετικά κύτταρα στο αρνητικό βοθρίο). Η αντικειμενοφόρος θα εξακολουθεί να λειτουργεί ως κατάλληλο υλικό ελέγχου για τον προσδιορισμό της σωστής απόδοσης της τεχνικής χρώσης και της αντιδραστικότητας του αντιδραστηρίου με τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (RSV), τη γρίπη Α και Β, τον ιό παραγρίπης 1, 2 ή 3 και τον αδενοϊό σε προσβεβλημένα κύτταρα.

13. ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Το επίπεδο ανίχνευσης των ιών του αναπνευστικού επηρεάζεται από γεωγραφικούς, κλιματικούς και εποχιακούς παράγοντες καθώς και από δημογραφικούς παράγοντες, όπως ο υπερπληθυσμός, οι κοινωνικο-οικονομικές συνθήκες και οι διατροφικές συνήθειες. Επιπλέον, οι παράγοντες ποιότητας του δείγματος με υπερπαραβιβάσιμο τον τύπο του εξεταζόμενου δείγματος, το χρονικό διάστημα συλλογής του δείγματος κατά την εξέλιξη της λοίμωξης, το χειρισμό και την αποθήκευση των δειγμάτων, σε συνδυασμό με τις διαδικασίες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των επιχρισμάτων, ενδέχεται να επηρεάσουν στο σύνολό τους την επιτυχία της διαγνωστικής εξέτασης με μεθόδους άμεσης ανίχνευσης.

Κατά γενικό κανόνα, οι ιοί του αναπνευστικού συστήματος δρουν σε παγκόσμια κλίμακα και ενδέχεται να προκαλέσουν οσποραδική λοίμωξη, μικρής εμβέλειας κρούσματα, επιδημίες ή και περιστασιακές πανδημίες με την εμφάνιση νέων αντιγονικών παραλλαγών του ιού. Παρά την εποχιακή εμφάνιση της αναπνευστικής ιογενούς λοίμωξης, είναι πιθανό κατά τη διάρκεια μίας εποχής η απομόνωση ή ανίχνευση ιών όπως ο ιός της παραϊνφλουέντζας 1 και 2 καθώς και ο ιός της γρίπης Β να μην είναι εφικτή λόγω των χαμηλών επιπέδων επιπολασμού.

Ο **ιός του αναπνευστικού συγκυτίου** συνδέεται εποχιακά με σημαντικό αριθμό κρουσμάτων λοιμώξεων του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού. Τα βρέφη στους πρώτους έξι μήνες της ζωής τους καθώς και όλες οι ανοσοκατεσταλμένες ομάδες διατρέχουν το μεγαλύτερο κίνδυνο. Περίπου το 50% όλων των βρεφών εμφανίζει λοίμωξη προερχόμενη από ιό του αναπνευστικού συγκυτίου κατά το πρώτο έτος ζωής²¹. Ο ιός του αναπνευστικού συγκυτίου ενδέχεται να ευθύνεται για το 20% όλων των λοιμώξεων του αναπνευστικού κατά τη διάρκεια μίας εποχής, στην οποία παρουσιάζεται έξαρση των ιών του αναπνευστικού²¹.

Ο **ιός της γρίπης Α ή Β** ενδέχεται να προκαλέσει κρούσματα λοίμωξης. Τα ποσοστά λοίμωξης από ιό της γρίπης Α επηρεάζονται κυρίως από την ανοσολογική κατάσταση ενός

πληθυσμού σε συνδυασμό με τα στελέχη που κυκλοφορούν. Όταν επιτυγχάνεται υψηλό ποσοστό ανοσίας, ο ιός της γρίπης ενδέχεται να ευθύνεται για το 15% των λοιμώξεων του αναπνευστικού. Ωστόσο, με την εμφάνιση νέων στελεχών, έναντι των οποίων υφίσταται περιορισμένη ή καθόλου ενδογενής ανοσία, ο ιός της γρίπης ενδέχεται να ευθύνεται για άνω του 50% όλων των λοιμώξεων του αναπνευστικού.²²

Όσον αφορά στον ιό της γρίπης Β, συνήθως αναφέρονται υψηλότερα ποσοστά προσβολής σε παιδιά σχολικής ηλικίας²³.

Οι **αδενοϊοί** ενδέχεται να ευθύνονται για το 5% των περιπτώσεων οξείας λοίμωξης του αναπνευστικού σε παιδιά κάτω των 4 ετών και για το 10% όλων των περιπτώσεων λοίμωξης του αναπνευστικού σε νοσηλευόμενα παιδιά²². Ορισμένες φορές, οι αδενοϊοί ευθύνονται για μικρής κλίμακας τοπικές επιδημίες οξείας αναπνευστικής νόσου σε νεαρούς ενήλικες, ειδικά σε αυτούς που ζουν υπό συνθήκες περιορισμού.

Οι προερχόμενες από τον **ιό της παραϊνφλουέντζας** λοίμωξεις αντιστοιχούν στο 20% των περιπτώσεων λοίμωξης του αναπνευστικού, σε μικρά παιδιά 2 έως 4 ετών, τα οποία ενδέχεται να εμφανίσουν βαριά συμπτώματα με συμπεριλαμβανόμενη τη λαρυγγοτραχειοβρογχίτιδα (ψευδομεμβρανώδης λαρυγγίτιδα).²⁴ Κρούσματα λοίμωξης, ειδικά με τον ιό της παραϊνφλουέντζας 3, ενδέχεται να εμφανιστούν σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας καθώς και σε ενήλικες. Πάνω από το 90% των βρεφών έχει προσβληθεί από τον ιό της παραϊνφλουέντζας στα πρώτα στάδια της ζωής, ενώ είναι συνθησιμένες οι συμπτωματικές επαναλοιμώξεις.⁸ Κρούσματα λοίμωξης που οφείλονται στον ιό της παραϊνφλουέντζας 3 ενδέχεται να λάβουν χώρα κατά τους εαρινούς και θερινούς μήνες.

Η άμεση ανίχνευση των ιών του αναπνευστικού σε επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού παρέχει ταχέως διαγνωστικές πληροφορίες σχετικά με την κλινική εικόνα, όταν η βιωσιμότητα του ιού ή η απουσία μέσων καλλιέργειας του αποτελούν εμπόδια για την επιτυχή διάγνωση.

Κατά τη διάρκεια του χειμώνα 1994-95, καταγράφηκαν τα παρακάτω επίπεδα επιπολασμού από τα τρία νοσοκομειακά εργαστήρια που πραγματοποιούσαν την κλινική αξιολόγηση.

Σε νοσοκομείο παιδών στη δυτική περιοχή της πολιτείας της Νέας Υόρκης των ΗΠΑ, ο RSV ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος σε 43,6% (478/1096) των αναπνευστικών δειγμάτων, ο ιός της γρίπης τύπου Α ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος και απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 3,1% (34/1096) των αναπνευστικών δειγμάτων και ο ιός της γρίπης Β ταυτοποιήθηκε με άμεσο ανοσοφθορισμό και απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 1,1% (12/1096) των αναπνευστικών δειγμάτων. Ο αδενοϊός ταυτοποιήθηκε με απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 4,4% (39/883) των αναπνευστικών δειγμάτων και ο ιός της παραϊνφλουέντζας ταυτοποιήθηκε με απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 2,9% (26/883) των αναπνευστικών δειγμάτων (με συμπεριλαμβανόμενα 2 δείγματα που περιείχαν τον ιό της παραϊνφλουέντζας τύπου 1, 3 δείγματα που περιείχαν τον ιό της παραϊνφλουέντζας τύπου 2 και 21 δείγματα που περιείχαν τον ιό της παραϊνφλουέντζας τύπου 3).

Σε νοσοκομείο στη βορειοδυτική Μεγάλη Βρετανία με ποικίλο πληθυσμό ασθενών, ο RSV ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος σε 49,68% (467/940) των αναπνευστικών δειγμάτων. Ο ιός της γρίπης τύπου Β ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος ή απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 1,7% (16/940) των αναπνευστικών δειγμάτων. Ο αδενοϊός ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος ή απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 1,17% (11/940) των αναπνευστικών δειγμάτων. Ο ιός της παραϊνφλουέντζας τύπου 1 ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος ή απομόνωση κυτταροκαλλιέργειας σε 0,1% (1/940) των αναπνευστικών δειγμάτων.

Σε νοσοκομείο στη νοτιοδυτική Μεγάλη Βρετανία με ποικίλο πληθυσμό ασθενών, ο RSV ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος σε 10,6% (195/1840) των αναπνευστικών δειγμάτων. Ο ιός της γρίπης τύπου Β ταυτοποιήθηκε με ανοσοφθορισμό άμεσου δείγματος ή απομόνωση κυτταροκα

144 δείγματα θετικά για RSV
11 δείγματα θετικά για ιό γρίπης Α
5 δείγματα θετικά για ιό γρίπης Β
19 δείγματα θετικά για ιό παραϊνφλουέντζας 1
4 δείγματα θετικά για ιό παραϊνφλουέντζας 2
26 δείγματα θετικά για ιό παραϊνφλουέντζας 3
8 δείγματα θετικά για αδενοϊό
141 αρνητικά δείγματα
5 δείγματα με συνλοίμωξεις;
2 συνλοίμωξεις RSV και παραϊνφλουέντζας 1
1 συνλοίμωξη RSV και αδενοϊού
1 συνλοίμωξη αδενοϊού και ιού γρίπης Β
1 συνλοίμωξη αδενοϊού και ιού παραϊνφλουέντζας 3

Στον πίνακα 14.2.1 εμφανίζονται τα αποτελέσματα του IMAGEN Respiratory Screen και μιας δοκιμασίας προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού, η οποία διατίθεται στο εμπόριο, σε σχέση με την απομόνωση ιού σε άμεσα αναπευστικά δείγματα. Για το IMAGEN Respiratory Screen, υπήρξε συσχέτιση της τάξεως του 94,1% (317/337) σε σχέση με την τυποποιημένη μέθοδο. Η ευαισθησία της εξέτασης ήταν 96,7% (205/212) σε σύγκριση με τη μέθοδο απομόνωσης του ιού.

Πίνακας 14.2.1 Σύγκριση του IMAGEN Respiratory Screen και δοκιμασίας προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) του εμπορίου σε σχέση με τη μέθοδο απομόνωσης ιού για άμεσα αναπνευστικά δείγματα

		IMAGEN Respiratory Screen	Δοκιμασία IIF εμπορίου
		+ -	+ -
Απομόνωση ιού ^a	+ -	205 7 ^c 13 ^b 112	207 5 ^c 15 ^b 110
% σχετική ευαισθησία		96,7 (205/212)	97,6 (207/212)
95% διαστήματα εμπιστοσύνης		(94-99%)	(95-100%)
% σχετική ειδικότητα		89,6 (112/125)	88,0 (110/125)
95% διαστήματα εμπιστοσύνης		(83-94%)	(81-93%)
% συσχέτισμός		94,1 (317/337)	94,1 (317/337)
95% διαστήματα εμπιστοσύνης		(91-97%)	(91-97%)

α Η απομόνωση ιού πραγματοποιήθηκε σε κυτταρικές σειρές Her-2, A549, πρωτογενούς νεφρικής κυτταροκαλλιέργειας πηχίου Rhesus, MK, HEL, RK13 ή G293 και επιβεβαιώθηκε με ειδικό έμμεσο ανοσοφθορισμό και με αναστολή αιμοσυγκόλλησης ή εξουδετέρωση του ιού ή εξέταση άμεσου ανοσοφθορισμού.

β Δεκατρία δείγματα επίσης θετικά μέσω εξετάσεων άμεσων δειγμάτων με ταυτόχρονη χρήση του IMAGEN και άλλων εξετάσεων τυποποίησης που διατίθενται στο εμπόριο (βλέπε πίνακα 14.2.4), συμπεριλαμβανομένων των εξής:

RSV	7
Γρίπης Α	3
Παραϊνφλουέντζας 1	1
Αδενοϊού	2

γ Δύο δείγματα θετικά στον αδενοϊό, δύο δείγματα θετικά στον ιό παραϊνφλουέντζας 2, τρία δείγματα θετικά στον ιό παραϊνφλουέντζας 3 (βλέπε πίνακα 14.2.4).

Δεκαπέντε δείγματα, στα οποία συμπεριλαμβάνονταν τα δεκατρία δείγματα που αναλύονται στην υποσημείωση και δύο άλλα δείγματα, τα οποία βρέθηκαν θετικά μόνο με την εξέταση IIF του εμπορίου (βλέπε πίνακα 14.2.4).

Ε Πέντε αρνητικά δείγματα με την εξέταση IIF του εμπορίου, στα οποία συμπεριλαμβάνονται ένα ιού γρίπης Α, δύο ιού παραϊνφλουέντζας 2, ένα ιού παραϊνφλουέντζας 3 και ένα αδενοϊού (βλέπε πίνακα 14.2.4).

Στον πίνακα 14.2 δίνονται τα στοιχεία από τη σύγκριση του IMAGEN Respiratory Screen με μια δοκιμασία προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού του εμπορίου σε δείγματα ρινοφαρυγγικών υλικών αναρρόφησης σε καθένα από τα κέντρα δοκιμών. Στο κέντρο 1 και 2, όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν (με εξαίρεση 7 δείγματα στο κέντρο 2) είχαν αποθηκευτεί κατεψυγμένα. Στο κέντρο 3, 121 δείγματα εξετάστηκαν όντας νωπά εντός 24 ωρών από τη συλλογή και 68 δείγματα εξετάστηκαν μετά από αποθήκευση υπό ψύξη.

Πίνακας 14.2.2 Σύγκριση του IMAGEN Respiratory Screen με δοκιμασία ανιχνευτικής προληπτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού του εμπορίου (Bartels VRK) σε αναπνευστικά δείγματα

		Δοκιμασία IIF του εμπυρίου	
		+	-
Κέντρο δοκιμών 1 (Νοτιοδυτική Μεγάλη Βρετανία) n = 74	IMAGEN Respiratory + Screen -	49 0	0 25
Κέντρο δοκιμών 2 (Βορειοανατολική Μεγάλη Βρετανία) n = 80	IMAGEN Respiratory + Screen -	46 4 ^ε	0 30
Κέντρο δοκιμών 3 (Πολιτεία Νέας Υόρκης, Η Π Α) n = 189	IMAGEN Respiratory + Screen -	126 1 ^ε	1 ^α 61

στ Καλλιέργεια ενός δείγματος θετική σε γρίπη Α, η οποία τυποποιήθηκε επίσης και στην εξέταση άμεσου δείγματος και στην καλλιέργεια με το αντιδραστήριο IMAGEN Influenza A.

Περιλαμβάνεται ένα δείγμα από το κέντρο 2 και ένα δείγμα από το κέντρο 3, τα οποία καταγράφηκαν ως θετικά μόνο με τη δοκιμασία προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού του εμπορίου.

Στον πίνακα 14.2.3 δίνεται μια σύνοψη των δεδομένων και από τα τρία κέντρα δοκιμών που συνέκριναν το IMAGEN Respiratory Screen με τη δοκιμασία προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού του εμπορίου σε δείγματα ρινοφαρυγγικών υλικών αναρρόφησης.

Πίνακας 14.2.3 Σύνοψη δεδομένων από τη σύγκριση του IMAGEN Respiratory Screen με δοκιμασία ανιχνευτικής προληπτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού του εμπορίου (Bartels VRK) σε αναπνευστικά δείγματα

		Δοκιμασία IIF του επιτορίου	
		+	-
IMAGEN Respiratory Screen	+	221	1 st
	-	5 ^c	116
Σχετική ευαισθησία		97,8% (221/226)	
95% διαστήματα εμπιστοσύνης		(95-99%)	
Σχετική ειδικότητα		99,1% (116/117)	
95% διαστήματα εμπιστοσύνης		(95-100%)	
ο συσχετισμός		98,3% (337/343)	
95% διαστήματα εμπιστοσύνης		(96-99%)	

στ Καλλιέργεια ενός δείγματος θετική σε γρίπη Α, η οποία τυποποιήθηκε επίσης και στην εξέταση άμεσου δείγματος και στην καλλιέργεια με το αντιδραστήριο IMAGEN Influenza A.

Περιλαμβάνεται ένα δείγμα από το κέντρο 2 και ένα δείγμα από το κέντρο 3, τα οποία καταγράφηκαν ως θετικά μόνο με τη δοκιμασία προληπτικής ανιχνευτικής εξέτασης έμμεσου ανοσοφθορισμού του εμπορίου.

Πίνακας 14.2.4 Αναλυτικά αποτελέσματα δειγμάτων που αναφέρονται στις υποσημειώσεις των πινάκων 14.2.1 έως 14.2.3

Αριθμός υποσημείωσης	Αρ. δείγματος	Αποτέλεσμα καλλιέργειας	Αποτέλεσμα IMAGEN Screen	Αποτέλεσμα IMAGEN Typing	Δοκιμασία προληπτικής ανιχνεύσεως εξεύσεως IIF επιτόριου	Δοκιμασία τυποποίησης IIF επιτόριου
B	1	Αρνητικό	Θετικό	Αδελανός	Θετικό	Αδελανός
B	2	Αρνητικό	Θετικό	Αδελανός	Θετικό	Αρνητικό
B	3	Αρνητικό	Θετικό	Γρίπη Α	Θετικό	Γρίπη Α
B	4	Αρνητικό	Θετικό	Γρίπη Α	Θετικό	Γρίπη Α
B	5	Αρνητικό	Ήθετικό	Γρίπη Α	Θετικό	Γρίπη Α
B	6	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Θετικό	RSV
B	7	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Θετικό	RSV
B	8	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Θετικό	RSV
B	9	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Θετικό	RSV
B	10	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Θετικό	RSV
B	11	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Θετικό	RSV
B	12	Αρνητικό	Θετικό	RSV	Διαφορούμενο	RSV
B	13	Αρνητικό	Θετικό	Παραϊνφλουέντζα 1	Θετικό	Παραϊνφλουέντζα 1
γ και ε	14	Παραϊνφλουέντζα 3	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό
γ και ε	15	Αδελανός 2	Αρνητικό	Δεν εξετάστηκε	Αρνητικό	Δεν εξετάστηκε
γ και ε	16	Παραϊνφλουέντζα 2	Αρνητικό	Αδύνατη διάγνωση	Αρνητικό	Παραϊνφλουέντζα 2
γ και ε	17	Παραϊνφλουέντζα 2	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Αδύνατη διάγνωση
Γ	18	Παραϊνφλουέντζα 3	Αρνητικό	Παραϊνφλουέντζα 3	Θετικό	Παραϊνφλουέντζα 3
Γ	19	Παραϊνφλουέντζα 3	Αρνητικό	Παραϊνφλουέντζα 3	Θετικό	Παραϊνφλουέντζα 3
Γ	20	Αδελανός 4	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αδελανός
δ και ζ	21	Αρνητικό	Αρνητικό	Τρίπη Α	Θετικό	Τρίπη Α
δ και ζ	22	Αρνητικό	Αρνητικό	Αρνητικό	Θετικό	Αρνητικό
Ε και ΙΤ	23	Γρίπη Α	Θετικό	Γρίπη Α	Αρνητικό	Γρίπη Α

14.2.2 Επιβεβαίωση καλλιέργειας

Τα κέντρα δοκιμών εξέτασαν το IMAGEN Respiratory Screen στον απομονωμένο ιό από κλινικά δείγματα και αποθηκεύμενα στελέχη ιού. Η συλλογή των κλινικών δειγμάτων πραγματοποιήθηκε κυρίως κατά το χειμώνα 1994-1995 και τα κέντρα δοκιμών συνέκριναν την εξέταση IMAGEN Respiratory Screen με τις τυποποιημένες μεθόδους. Η απομόνωση του ιού πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας κύτταρα HEp-2, MRC-5 ή RMK και τα απομονωμένα στελέχη τυποποιήθηκαν και επιβεβαιώθηκαν με αναστολή αιμοσυγκόλλησης, εξουδετέρωση του ιού ή άμεσο ανοσοφθορισμό.

Εξετάστηκαν συνολικά 87 καλλιέργειες, οι οποίες συμπεριλάμβαναν 7 καλλιέργειες θετικές σε RSV, 10 θετικές σε ιό γρίπης Α, 15 θετικές σε ιό γρίπης Β, 6 θετικές σε ιό παραϊνφλουέντζας 1, 8 θετικές σε ιό παραϊνφλουέντζας 2, 5 θετικές σε ιό παραϊνφλουέντζας 3, 9 θετικές σε αδενοϊό και 27 αρνητικές καλλιέργειες.

Πίνακας 14.2.5 Σύγκριση του IMAGEN Respiratory Screen με μέθοδο απομόνωσης ιού και εξέταση IFF του εμπορίου (Bartels VRK) για επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

	Εξέταση IIF εμπορίου	Εξουδετέρωση ιού	
		+	-
Κέντρο δοκιμών 3 (Νοτιοδυτική Μεγάλη Βρετανία) n = 32	I M A G E N + Respiratory . Screen	17 0	1 ^a 14
Κέντρο δοκιμών 3 (Πολιτεία Νέας Υόρκης, ΗΠΑ) n = 52	I M A G E N + Respiratory . Screen	39 0	0 13
Oxoid (Ely) Ltd n = 3	I M A G E N + Respiratory . Screen	3 0	0 0

α Δείγματα από τα οποία απομονώθηκε ο RSV και στη συνέχεια τυποποιήθηκε με καλλιέργεια

Πίνακας 14.2.6 Σύνοψη δεδομένων από τη σύγκριση του IMAGEN Respiratory Screen με μέθοδο απομόνωσης ιού και εξέτασης IIF του εμπορίου (Bartels VRK) για επιβεβαίωση κυτταροκαλλιέργειας

	Εξέταση IIF εμπορίου	Εξουδετέρωση ιού
	+ -	+ -
IMAGEN Respiratory Screen	59 1 ^a	60 0
	0 27	0 27
ο σχετική ευαισθησία	100(59/59)	100 (60/60)
95% διαστήματα εμπιστοσύνης	(94-100%)	(94-100%)
ο σχετική ειδικότητα	96,4(27/28)	100 (27/27)
95% διαστήματα εμπιστοσύνης	(82-100%)	(87-100%)
ο συσχισμός	98,9 (86/87)	100 (87/87)
95% διαστήματα εμπιστοσύνης	(94-100%)	(96-100%)

α Δείγματα από τα οποία απομονώθηκε ο RSV και στη συνέχεια τυποποιήθηκε με καλλιέργεια

14.3. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Οι μικροοργανισμοί που αναφέρονται στον Πίνακα 14.3.1 εξετάστηκαν με το IMAGEN Respiratory Screen και δεν παρουσίασαν διαταυρούμενη αντιδραστικότητα. Πραγματοποιήθηκαν μελέτες σχετικά με τη διασταυρούμενη αντιδραστικότητα σε παρασκευάσματα αντικειμενοφόρου πλάκας από αποθηκωμένες καλλιέργειες ή πρόσφατα απομονωμένα μυκάρια.

Πίνακας 14.3.1 Μικροοργανισμοί που εξετάστηκαν με το IMAGEN Respiratory Screen και βρέθηκαν μη αντιδραστικοί

Μικροοργανισμός	Προέλευση
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10116 ²
<i>Bordetella pertussis</i> ¹	Σκοκολάτχρονον άγαρ ³
<i>Branhamella catarrhalis</i> ¹	Σκοκολάτχρονον άγαρ ³
<i>Candida albicans</i> ¹	Μυκητιασικό μέσο ¹
<i>Chlamydia pneumoniae</i> ¹	Παρασκευάσμα εμπορίου ⁴
<i>Chlamydia psittaci</i> ¹	Παρασκευάσμα εμπορίου ⁴
<i>Chlamydia trachomatis A-K, LGV1-LGV3</i> ¹	Παρασκευάσμα εμπορίου ⁴
<i>Ιός coxsackie A9</i>	Παρασκευάσμα εμπορίου ⁵
<i>Ιός coxsackie B1, B2, B3, B4, B5</i>	Αποθηκευμένα στελέχη ⁵
Κυτταρομεγαλός	Ανθρώπινο κλινικά απομονωμένος ιός ⁵
<i>Ιός echo 9, 11, 19, 22</i>	Ανθρώπινο κλινικά απομονωμένοι ιοί ⁵
<i>Ιός Epstein-Barr</i>	Π α ρ α σ κ ε υ ά σ μ α ε μ π ο ρ ί ο υ π ο υ χρησιμοποείται σε συνήθεις ορολογικές εξετάσεις ⁵
<i>Ιός απλού έρπητα τύπου 1 και 2</i>	Παρασκευάσμα εμπορίου ⁵
<i>Legionella pneumophila</i>	Οροσάβδα 1. Τυποποιημένο λεκιθικός ασκός. Παρασκευάσμα εμπορίου που χρησιμοποιείται σε συνήθεις ορολογικές εξετάσεις ⁴
<i>Μυκόπλάσμα arginini</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10129 ²
<i>Μυκόπλάσμα hominis</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10111 ²
<i>Μυκόπλάσμα hyorhinus</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10130 ²
<i>Μυκόπλάσμα orale</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10112 ²
<i>Μυκόπλάσμα pneumoniae</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10119 ²
<i>Μυκόπλάσμα salvarium</i>	Ίζημα ζυμού καλλιέργειας NCTC 10113 ²
<i>Neisseria cinerea</i> ¹	Αιματούχο άγαρ ³
<i>Neisseria lactamica</i> ¹	Αιματούχο άγαρ ³
<i>Neisseria meningitidis A, B, C</i> ¹	Αιματούχο άγαρ ³
<i>Neisseria perflava</i> ¹	Αιματούχο άγαρ ³

Ιός πολιομυελίτιδας τύπου 1, 2 και 3	Ανθρώπινοι κλινικά απομονωμένοι ιοί ¹
<i>Pneumocystis carinii</i>	Παρασκεύασμα εμπορίου που χρησιμοποιείται σε συνήθεις ορολογικές εξετάσεις ⁴
Ρινοϊός	Ανθρώπινοι κλινικά απομονωμένοι ιοί ²
Ομάδες στρεπτόκοκκου A, B, C, D, F	Άγαρ Columbia ³
και G ⁵	

- 1 Τα δεδομένα λήφθηκαν στην Oxoid (Ely) Ltd.
2 Επιχρίσματα που παρασκευάστηκαν από καλλιέργειες
ζωμού τριών ημερών υποβλήθηκαν σε φυγοκέντρηση
σε 3000g για 30 λεπτά, πλύθηκαν σε PBS, υποβλήθηκαν
σε επανεναιώρηση σε 100μl PBS και στη συνέχεια
15μl εναιωρήματος προστέθηκαν στις υποδοχές της
αντικειμενοφόρου πλάκας μικροσκοπίου.
- 3 Γαλακτώδη εναιωρήματα παρασκευασμένα σε PBS
από μέσο καλλιέργειας, τα οποία υποβλήθηκαν σε
φυγοκέντρηση, πλύση, επανεναιώρηση σε 1ml PBS και
στη συνέχεια 20μl εναιωρήματος προστέθηκαν στις
υποδοχές της αντικειμενοφόρου πλάκας μικροσκοπίου.
- 4 Εμπορικά παρασκευάσματα αντικειμενοφόρων πλάκων.
5 Επιχρίσματα παρασκευασμένα από καλλιέργειες ιού
σε σωληνάριο που εμφανίζουν 50% CPE, τα οποία
πλύνθηκαν, υποβλήθηκαν σε επανεναιώρηση σε 0,2ml
PBS και στη συνέχεια 15μl εναιωρήματος προστέθηκαν
στις υποδοχές αντικειμενοφόρου πλάκας μικροσκοπίου.
15. **ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

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. Kriple) 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 viral 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)** Interference 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. **Caal 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. **McClean, D.M., Bannatyne, R.M. and Givan, K.F. (1967)** Myxovirus dissemination by air. *Canadian medical Association Journal* **89**: 1257-59



IFU X7852A Αναθεωρήθηκε τον Μάρτιο του 2017



Για οποιοδήποτε ερώτημα, παρακαλούμε να επικοινωνήσετε με την τοπική διανομέα της.

Οδηγίες χρήσης για την αντικατάσταση και εκδόσεις σε άλλες γλώσσες υπάρχουν διαθέσιμες στη διεύθυνση www.oxoid.com/IFU