

pozzetti con diametro inferiore a 6mm, si consiglia di utilizzare 20µL di reagente.

10.5. SECONDA INCUBAZIONE

Incubare i vetrini con reagente FITC in una **camera umida** per **15 minuti** a **37°C**. Non lasciare andare a secchezza il reagente sul campione, poiché ciò provocherebbe una colorazione non specifica.

10.6. LAVAGGIO DEL VETRINO

Sciacquare delicatamente con PBS utilizzando una spruzzetta. Non indirizzare il getto di PBS direttamente sui pozzetti. Inclinare il vetrino verso il basso e indirizzare il getto di PBS attraverso il vetrino al di sopra dei pozzetti, facendo scorrere la soluzione PBS dal bordo inferiore del vetrino. Lavare delicatamente il vetrino in un bagno con agitazione contenente soluzione PBS per 5 minuti. Svuotare il bagno dalla soluzione PBS e lasciare asciugare all’aria il vetrino a temperatura ambiente (15-30°C).

10.7. AGGIUNTA DEL MEZZO DI MONTAGGIO

Aggiungere una goccia di mezzo di montaggio al centro di ogni pozzetto e posizionare un coprioggetti sul mezzo di montaggio e sul campione, assicurandosi che non vi siano bolle bloccate all’interno.

10.8. LETTURA DEL VETRINO

Esaminare le intere aree dei pozzetti contenenti il campione colorato utilizzando il microscopio a epifluorescenza. Come descritto nella sezione 11, la fluorescenza dovrebbe essere visibile a ingrandimento x200-x500. (Per ottenere risultati migliori, i vetrini dovrebbero essere esaminati immediatamente dopo la colorazione, ma possono essere conservati a 2-8°C, al buio, per un massimo di 24 ore).

Se si ottiene un risultato di screening positivo (vedere la Sezione 11.2), è possibile procedere all’identificazione specifica del virus presente su una preparazione di vetrini a 8 pozzetti (vedere la Sezione 11) utilizzando i singoli reagenti ad immunofluorescenza diretta IMAGEN elencati nella Sezione 6.1.

11. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

11.1. CONTROLLI

11.1.1 Pozzetti positivi sul vetrino di controllo

Quando vengono colorati e osservati come descritto nella sezione 10, i pozzetti positivi sul vetrino di controllo dovrebbero mostrare cellule con fluorescenza verde mela citoplasmatica e/o nucleare che contrasta con lo sfondo di materiale controcolorato di rosso. I vetrini di controllo positivo devono essere utilizzati per controllare che la procedura di colorazione sia stata eseguita in modo soddisfacente.

11.1.2 Pozzetti negativi sul vetrino di controllo

Quando vengono colorati e osservati come illustrato nella sezione 10, i pozzetti negativi sul vetrino di controllo dovrebbero mostrare le cellule senza fluorescenza intracellulare verde mela. Dovrebbe essere visibile soltanto lo sfondo controcolorato di rosso.

11.2. CAMPIONI CLINICI

11.2.1 Comparsa di cellule infettate dal virus

Le cellule infettate colorate mostreranno una fluorescenza verde mela citoplasmatica e/o nucleare. Le cellule non infettate si coloreranno di rosso con controcolorazione blu Evans.

11.2.2 Interpretazione

Una diagnosi positiva viene avanzata quando una o più cellule nel campione fissato e colorato mostrano il tipico pattern di colorazione a fluorescenza illustrato nella Sezione 11.2.1.

Una diagnosi negativa viene avanzata quanto i campioni fissati e colorati non mostrano fluorescenza con il reagente di screening. Per i campioni di aspirato nasofaringeo colorati direttamente, prima di riportare un risultato negativo è necessario osservare almeno 20 cellule epiteliali respiratorie (colonnari) non infettate all’interno dell’area del pozzetto di ogni vetrino. Se è presente una quantità di cellule insufficiente, consultare la Sezione 11.2.3.

11.2.3 Cellule insufficienti

Se sul vetrino è presente una quantità di cellule insufficiente, la parte rimanente del campione clinico deve essere centrifugata a 380g per 10 minuti a temperatura ambiente (15-30°C). Rispondere in un volume inferiore (circa 50µL) di PBS prima della ridistribuzione (25µL) su ogni area del pozzetto. In alternativa, è richiesta la ripetizione del campione clinico.

11.2.4 Controllo di qualità

Un vetrino di controllo positivo e negativo dovrebbe essere colorato ed esaminato in ogni occasione in cui vengono utilizzati i reagenti IMAGEN Respiratory Screen.

I vetrini di controllo forniti con il kit servono da controllo adatto a determinare la corretta performance della procedura di colorazione del reagente con RSV, virus influenzali A e B, virus parainfluenzale 1, 2 o 3 e adenovirus nelle cellule infettate.

11.2.5 Resoconto dei risultati

Le seguenti linee guida sono raccomandate per il resoconto dei risultati:

Risultato positivo definito nella Sezione 11.2.2:

Presumibilmente positivo per uno o più virus tra RSV, virus influenzali A e B, virus parainfluenzale 1, 2 o 3 e adenovirus. A seguire l’isolamento della coltura e la determinazione specifica del virus. Per la determinazione specifica, consultare la Sezione 11.4.

Risultato negativo definito nella Sezione 11.2.2:

Presumibilmente negativo per RSV, virus influenzali A e B, virus parainfluenzale 1, 2 o 3 e adenovirus. A seguire la conferma mediante coltura

11.3. CONFERMA MEDIANTE COLTURA CELLULARE

11.3.1 Comparsa di cellule infettate dal virus

Le cellule infettate mostreranno una fluorescenza verde mela intracellulare, nucleare e/o citoplasmatica e devono essere registrate come positive. Le cellule non infettate verranno controcolorate di rosso, con controcolorazione blu Evans.

11.3.2 Interpretazione dei risultati

Una diagnosi positiva viene avanzata quando almeno una cellula fissata e colorata mostra il pattern di fluorescenza illustrato nella Sezione 11.3.1 dopo la colorazione.

Un risultato negativo viene indicato quanto i campioni fissati e colorati non mostrano fluorescenza dopo la colorazione con il reagente di screening.

Prima di riportare un risultato negativo, è necessario che all’interno di ogni area del pozzetto del vetrino siano visibili almeno 50 cellule della coltura cellulare non infettate sottoposte al test. Se è presente una quantità di cellule insufficiente, consultare la Sezione 11.3.4.

11.3.3 Resoconto dei risultati

Le seguenti linee guida sono raccomandate per il resoconto dei risultati:

Risultato positivo definito nella Sezione 11.3.2:

Positivo per uno o più virus tra RSV, virus influenzali A e B, virus parainfluenzale 1, 2 o 3 e adenovirus. A seguire la determinazione specifica. Per la determinazione specifica, consultare la Sezione 11.4.

Risultato negativo definito nella Sezione 11.3.2:

Negativo per RSV, virus influenzali A e B, virus parainfluenzale 1,

2 o 3 e adenovirus.

11.3.4 Cellule insufficienti

Se sul vetrino è presente una quantità di cellule insufficiente, la parte rimanente del campione clinico deve essere centrifugata a 200g per 10 minuti a temperatura ambiente (15-30°C). Rispondere in un volume inferiore (circa 50µL) di PBS prima della ridistribuzione (25µL) su ogni area del pozzetto.

In alternativa, un campione ripetuto dovrebbe essere reinoculato in monostrati cellulari freschi e dovrebbe essere ripetuta la coltura del virus.

11.3.5 DETERMINAZIONE SPECIFICA DEL VIRUS RESPIRATORIO

La determinazione specifica del virus respiratorio presente può essere eseguita confermando il risultato positivo utilizzando l’immunofluorescenza diretta IMAGEN (vedere la Sezione 6.1, per la preparazione dei vetrini vedere la Sezione 9).

12. LIMITAZIONI DI PERFORMANCE

12.1. Utilizzare soltanto il mezzo di montaggio fornito.

12.2. Sebbene gli anticorpi monoclonali utilizzati in questo test siano stati ottenuti contro ceppi prototipo e siano stati selezionati in base alla loro reattività a un epitopo conservato, è possibile che essi non rilevino i ceppi del virus che hanno subito una variazione antigenica dell’epitopo bersaglio o i nuovi ceppi del virus.

12.3. Il reagente di screening e il reagente di controllo negativo possono colorare in modo non specifico i ceppi di *Staphylococcus aureus* contenenti la proteina A. Ciò è dovuto all’interazione non immune della proteina A con la regione Fc degli anticorpi monoclonali, un’osservazione riportata anche per altri dosaggi a fluorescenza basati su anticorpi monoclonali e policlonali²⁰.

12.4. L’apparizione visiva dell’immagine in fluorescenza ottenuta può variare a causa del tipo di microscopio e della fonte di luce utilizzata.

12.5. Si raccomanda l’uso di 25µL di reagente per coprire un’area del pozzetto con diametro 6mm. Una riduzione di tale volume può comportare difficoltà nella copertura dell’area del campione e ridurre la sensibilità.

12.6. Tutti i reagenti sono forniti a concentrazioni di lavoro fisse. I risultati del test verranno influenzati se i reagenti vengono modificati o non vengono conservati in base alle condizioni illustrate nella sezione 5.

12.7. IMAGEN Respiratory Screen non può essere utilizzato per determinare specificamente i virus respiratori. Per la determinazione specifica, i campioni positivi devono essere ulteriormente analizzati utilizzando i singoli reagenti ad immunofluorescenza diretta IMAGEN (vedere la Sezione 6).

12.8. Il mancato rilevamento di un virus mediante test diretti o conferma mediante coltura cellulare può essere dovuta a fattori quali la raccolta del campione in un momento della malattia non appropriato, raccolta e/ o maneggiamento impropri del campione, mancanza di coltura cellulare e così via. Un risultato negativo non esclude la possibilità della presenza di un’infezione virale.

12.9. I risultati dell’analisi devono essere interpretati nel contesto delle informazioni disponibili da studi epidemiologici, anamnesi del paziente e altre procedure diagnostiche.

12.10. A seconda del tipo di vetrino di controllo, potrebbe verificarsi una miscelazione occasionale di materiale (ossia, un numero ridotto di cellule positive nel pozzetto negativo). In ogni caso, il vetrino serve sempre da strumento di controllo per determinare i risultati della tecnica di colorazione e la reattività del reagente con RSV, l’influenza A e B, il virus parainfluenzale 1, 2 o 3 e adenovirus in cellule infette.

13. VALORI ATTESI

Il tasso di determinazione per i virus respiratori è influenzato da fattori geografici, climatici e stagionali, così come da fattori demografici quali il sovraffollamento, lo status socio-economico e nutrizionale dei soggetti. Inoltre, i fattori di qualità del campione, tra cui il tipo di campione testato, il momento di raccolta del campione durante il corso dell’infezione, la manipolazione e la conservazione dei campioni, incluse le procedure utilizzate per la preparazione degli strisci, possono influenzare il successo di un testing diagnostico mediante tecniche di determinazione diretta.

In genere, i virus respiratori si verificano su scala mondiale e possono provocare infezioni sporadiche, piccole insorgenze, epidemie o pandemie occasionali con la comparsa di nuove varianti antigeniche del virus. Nonostante le occorrenze stagionali di infezione da virus respiratorio, è possibile che durante il corso di una stagione virus come il virus parainfluenzale 1 e 2 e il virus influenzale B possano non essere isolati o rilevati per via di tassi di prevalenza bassi.

Il **virus respiratorio sinciziale** è associato ogni stagione a insorgenze significative di infezioni del tratto respiratorio superiore o inferiore. Gli infanti nei primi dei mesi di vita e i pazienti immunocompromessi sono i soggetti più a rischio. Circa il 50% di tutti gli infanti è affetto da una infezione da RSV durante il primo anno di vita.²¹ L’RSV può rappresentare il 20% di tutte le infezioni del tratto respiratorio durante una stagione di infezioni respiratorie²¹.

Il **virus influenzale A o B** può provocare insorgenze dell’infezione. I tassi di infezione dell’influenza A dipendono maggiormente dallo stato immune di una popolazione in associazione ai ceppi in circolazione. Quando si ottiene una elevata proporzione di immunità, l’Influenza può rappresentare il 15% delle infezioni del tratto respiratorio, ma con la comparsa di nuovi ceppi contro i quali vi è una immunità indigena limitata o nulla, l’influenza può rappresentare anche più del 50% di tutte le infezioni del tratto respiratorio²².

Con il virus influenzale B, in genere vengono riportati tassi di attacco superiori tra i bambini in età scolare²³.

Gli **adenovirus** possono essere responsabili del 5% delle infezioni respiratorie acute nei bambini di età inferiore ai 4 anni e del 10% di tutte le infezioni respiratorie nei bambini ricoverati.¹² Gli adenovirus sono a volte responsabili di piccole epidemie localizzate di malattie respiratorie acute in adulti giovani, specialmente quelli che vivono in ambienti circoscritti.

Le infezioni da **virus parainfluenzale** rappresentano fino al 20% delle infezioni del tratto respiratorio nei bambini di 2-4 anni di età, che possono essere affetti da sintomi gravi tra cui laringotracheobronchite (laringite difterica)²⁴. Le insorgenze dell’infezione, specialmente con il virus parainfluenzale 3, possono verificarsi in bambini più grandi e negli adulti. Più del 90% degli infanti viene infettato dal virus parainfluenzale molto presto e sono comuni le reinfezioni sintomatiche⁶. L’insorgenza di infezioni dovute al virus parainfluenzale 3 possono verificarsi durante i mesi primaverili ed estivi.

La determinazione diretta dei virus respiratori nelle cellule epiteliali respiratorie fornisce informazioni clinicamente rilevanti in modo rapido quando il successo di una diagnosi viene limitato dalla vitalità del virus o dall’assenza di strumenti per la coltura

del virus.

Durante l’inverno 1994-95 sono stati registrati i seguenti tassi di prevalenza presso i tre laboratori di ospedale che avevano eseguito la valutazione clinica.

In un ospedale pediatrico dello stato di New York occidentale, l’RSV è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta nel 43,6% dei campioni respiratori (478 su 1096), il virus influenzale di tipo A è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione e isolamento della coltura cellulare nel 3,1% dei campioni respiratori (34 su 1096) e il virus influenzale B è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta e isolamento della coltura cellulare nell’1,1% dei campioni respiratori (12 su 1096). L’adenovirus è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione e isolamento della coltura cellulare nel 3,1% dei campioni respiratori (39 su 883) e un virus parainfluenzale è stato determinato mediante isolamento della coltura cellulare nel 2,9% dei campioni respiratori (26 su 883, tra cui 2 campioni che contenevano virus parainfluenzale 1, 3 campioni che contenevano virus parainfluenzale 2 e 21 campioni che contenevano virus parainfluenzale 3).

In un ospedale nel Regno Unito nord-occidentale in cui la popolazione di pazienti era varia, l’RSV è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione nel 49,68% dei campioni respiratori (467 su 940). Il virus influenzale B è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione o isolamento della coltura cellulare nell’1,7% dei campioni respiratori (16 su 940). L’adenovirus è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione o isolamento della coltura cellulare nell’1,17% dei campioni respiratori (11 su 940). Il virus parainfluenzale 1 è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione o isolamento della coltura cellulare nello 0,1% dei campioni respiratori (1 su 940).

In un ospedale nel Regno Unito sud-occidentale in cui la popolazione di pazienti era varia, l’RSV è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione nel 10,6% dei campioni respiratori (195 su 1840). Il virus influenzale B è stato determinato mediante immunofluorescenza diretta del campione o isolamento della coltura cellulare nel 3,04% dei campioni respiratori (56 su 1840). L’adenovirus è stato determinato mediante isolamento della coltura cellulare nell’1,2% dei campioni respiratori (22 su 1840) e un virus parainfluenzale è stato identificato mediante immunofluorescenza diretta del campione o isolamento della coltura cellulare nell’1,14% dei campioni respiratori (21 su 1840). Oltre ai virus elencati, dai campioni respiratori sono stati isolati i seguenti virus: picornavirus 1% (18 su 1840), citomegalovirus 0,38% (7 su 1840), rinovirus 1,7% (32 su 1840), herpes simplex virus di tipo 1 1,03% (19 su 1840) ed herpes simplex virus di tipo 2 0,5% (1 su 1840).

14. CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE SPECIFICHE

14.1. STUDI CLINICI

IMAGEN Respiratory Screen è stato valutato per l’uso diretto presso due centri di studi clinici britannici, uno nel Regno Unito nord-orientale e uno nel Regno Unito sud-occidentale, e presso un centro di studio nello stato di New York, USA. È stata eseguita l’analisi su campioni respiratori raccolti da bambini e adulti ricoverati con i sintomi di un’infezione respiratoria. Il test è stato anche valutato per la determinazione dell’antigene del virus nelle colture cellulari inoculate con i campioni respiratori.

I campioni clinici sono stati raccolti durante il periodo inverno 1994/primavera 1996 e i centri di studio hanno confrontato il test IMAGEN Respiratory Screen con i metodi standard utilizzati e un test ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio che comprende un reagente di screening e reagenti di tipizzazione individuale. Per tali valutazioni sono stati utilizzati campioni clinici freschi e campioni congelati e sono stati anche analizzati i campioni congelati dal 1993-1994.

I centri di studio hanno eseguito test diretti su 343 campioni clinici e su 87 monostrati di coltura cellulare per confermare la presenza del virus. Per i campioni diretti, IMAGEN Respiratory Screen è stato valutato contro un test di screening ad immunofluorescenza diretta e una coltura del virus disponibili in commercio. Per le colture cellulari, IMAGEN Respiratory Screen è stato valutato contro un test di screening ad immunofluorescenza indiretta e insieme all’inibizione di emoassorbimento, alla neutralizzazione virale o al test ad immunofluorescenza diretta.

14.2. PERFORMANCE CLINICA

14.2.1 Campioni diretti

È stato valutato un totale di 343 aspirati nasofaringei (NPA) presso i tre centri di studio. I campioni includevano:

144	campioni positivi all’RSV
11	campioni positivi all’influenza A
5	campioni positivi all’influenza B
19	campioni positivi al virus parainfluenzale 1
4	campioni positivi al virus parainfluenzale 2
26	campioni positivi al virus parainfluenzale 3
8	campioni positivi all’adenovirus
141	campioni negativi
5	campioni con coinfezioni:
2	coinfezioni da RSV e virus parainfluenzale 1
1	coinfezione da RSV e adenovirus
1	coinfezione da adenovirus e influenza B
1	coinfezione da adenovirus e virus parainfluenzale 3

Nella tabella 14.2.1 vengono riportati i risultati ottenuti da IMAGEN Respiratory Screen e da un test di screening ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio, confrontati con l’isolamento virale su campioni respiratori diretti. È stata ottenuta una correlazione del 94,1% (317 campioni su 337) per IMAGEN Respiratory Screen paragonato al metodo standard. La sensibilità del test era del 96,7% (205 su 212) paragonato all’isolamento virale.

Tabella 14.2.1 Confronto tra IMAGEN Respiratory Screen e un test di screening ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio con isolamento virale per campioni respiratori diretti

		IMAGEN Respiratory Screen		Test IIF disponibile in commercio	
		+	-	+	-
Isolamento virale^a		205	7^c	207	5^c
		13^b	112	15^b	110
Sensibilità relativa (%)		96,7 (205/212)		97,6 (207/212)	
Intervalli di confidenza al 95%		(94-99%)		(95-100%)	
Specificità relativa (%)		89,6 (112/125)		88,0 (110/125)	
Intervalli di confidenza al 95%		(83-94%)		(81-93%)	
Correlazione (%)		94,1 (317/337)		94,1 (317/337)	
Intervalli di confidenza al 95%		(91-97%)		(91-97%)	

a L’isolamento virale è stato eseguito in cellule Hep-2, A549, cellule primarie di rene di scimmia Rhesus, MK, HEL, RK13 o linee cellulari G293 ed è stato confermato mediante immunofluorescenza indiretta specifica insieme all’inibizione di emoassorbimento, alla neutralizzazione virale o al test ad immunofluorescenza

diretta.

b Tredici campioni sono risultati positivi anche mediante test diretti sui campioni utilizzando sia IMAGEN, sia i test di tipizzazione disponibili in commercio (vedere la tabella 14.2.4) tra cui:

RSV	7
Influenza A	3
Parainfluenza 1	1
Adenovirus	2

c Due campioni sono risultati positivi all’adenovirus; due campioni sono risultati positivi alla Parainfluenza 2; tre campioni sono risultati positivi alla Parainfluenza 3 (vedere la tabella 14.2.4).

d Quindici campioni, tra cui i tredici illustrati nella nota b e altri due campioni, sono risultati positivi soltanto mediante test IIF disponibili in commercio (vedere la tabella 14.2.4).

e Cinque campioni sono risultati negativi mediante i test IIF disponibili in commercio: un campione è risultato negativo al virus influenzale A, due al virus parainfluenzale 2, uno al virus parainfluenzale 3 e uno all’adenovirus (vedere la tabella 14.2.4).

Nella tabella 14.2.2 viene riportato un confronto tra IMAGEN Respiratory Screen e un test di screening ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio su campioni di aspirato nasofaringeo in ognuno dei centri di studio. Presso i Centri 1 e 2, tutti i campioni testati (ad eccezione di 7 campioni presso il centro 2) erano stati conservati congelati. Presso il Centro 3, 121 campioni sono stati testati da freschi entro 24 ore dalla raccolta e 68 campioni sono stati testati dopo essere stati conservati congelati.

Tabella 14.2.2 Confronto tra IMAGEN Respiratory Screen e un test di screening ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio (kit VRK Bartels) su campioni respiratori

		Test IIF disponibile in commercio	
		+	-
Centro di studio 1 (Regno Unito sud-occidentale) n = 74	IMAGEN Respiratory + Screen	4	0
		0	25
Centro di studio 2 (Regno Unito nord-orientale) n = 80	IMAGEN Respiratory + Screen	46	0
		-	4 ^b
Centro di studio 3 (Stato di New York, USA) n = 189	IMAGEN Respiratory + Screen	126	1 ^c
		-	1 ^b

f Una coltura del campione è risultata positiva all’influenza A, anche tipizzata nei test diretti sul campione e per coltura mediante il reagente all’influenza A di IMAGEN.

g Include un campione dal Centro 2 e uno dal Centro 3, registrati come positivi soltanto nel test di screening IIF disponibile in commercio.

Nella tabella 14.2.3 viene riportato un sommario dei dati provenienti dai tre centri di studio in cui IMAGEN Respiratory Screen è stato confrontato con un test di screening ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio su campioni di aspirato nasofaringeo.

Tabella 14.2.3 Sommario del confronto tra IMAGEN Respiratory Screen e un test di screening ad immunofluorescenza indiretta disponibile in commercio (kit VRK Bartels) su campioni respiratori

		Test IIF disponibile in commercio	
		+	-
IMAGEN Respiratory Screen	+ -	221	1 ^c
		5 ^b	116
Sensibilità relativa		97,8% (221/226)	
Intervalli di confidenza al 95%		(95-99%)	
Specificità relativa		99,1% (116/117)	
Intervalli di confidenza al 95%		(95-100%)	
Correlazione (%)		98,3% (337/343)	
Intervalli di confidenza al 95%		(96-99%)	

f Una coltura del campione è risultata positiva all’influenza A, anche tipizzata nei test diretti sul campione e per coltura mediante il reagente all’influenza A di IMAGEN.

g Include un campione dal Centro 2 e uno dal Centro 3 registrati come positivi soltanto nel test di screening IIF disponibile in commercio

Tabella 14.2.4 Risultati dettagliati dei campioni in riferimento alle note relative alle tabelle 14.2.1 - 14.2.3

Riferimento alla nota	Campionen.	Risultati della coltura	Risultato di IMAGEN Screen	Risultato di IMAGEN Typing	Test di screening IIF disponibile in commercio	Test di tipizzazione IIF disponibile in commercio
B	1	Negativo	Positivo	Adenovirus	Positivo	Adenovirus
B	2	Negativo	Positivo	Adenovirus	Positivo	Negativo
B	3	Negativo	Positivo	Influenza A	Positivo	Influenza A
B	4	Negativo	Positivo	Influenza A	Positivo	Influenza A
B	5	Negativo	Positivo?	Influenza A	Positivo	Influenza A
B	6	Negativo	Positivo	RSV	Positivo	RSV
B	7	Negativo	Positivo	RSV	Positivo	RSV
B	8	Negativo	Positivo	RSV	Positivo	RSV
B	9	Negativo	Positivo	RSV	Positivo	RSV
B	10	Negativo	Positivo	RSV	Positivo	RSV
B	11	Negativo	Positivo	RSV	Positivo	RSV
B	12	Negativo	Positivo	RSV	Incerto	RSV
B	13	Negativo	Positivo	Parainfluenza 1	Positivo	Parainfluenza 1
C ed E	14	Parainfluenza 3	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
C ed E	15	Adenovirus 2	Negativo	Non testato	Negativo	Non testato
C ed E	16	Parainfluenza 2	Negativo	N o n diagnosticabile	Negativo	?Parainfluenza 2
C ed E	17	Parainfluenza 2	Negativo	Negativo	Negativo	N o n diagnosticabile
C	18	Parainfluenza 3	Negativo	?Parainfluenza 3	Positivo	?Parainfluenza 3
C	19	Parainfluenza 3	Negativo	Parainfluenza 3	Positivo	Parainfluenza 3
C	20	Adenovirus 4	Negativo	Negativo	Positivo	Adenovirus
D ed G	21	Negativo	Negativo	?Influenza A	Positivo	?Influenza A
D ed G	22	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
E ed F	23	Influenza A	Positivo	Influenza A	Negativo	Influenza A

negative.

Tabella 14.2.5 Confronto tra of IMAGEN Respiratory Screen con isolamento virale e un test IIF (kit VRK Bartels) per la conferma mediante coltura cellulare disponibile in commercio

		Test IIF disponibile in commercio		Neutralizzazione virale	
		+	-	+	-
Centro di studio 1 (Regno Unito sud-occidentale) n = 32	I M A G E N +	17	1 ^a	18	0
	Respiratory - Screen	0	14	0	14
Centro di studio 3 (Stato di New York, USA) n = 52	I M A G E N +	39	0	39	0
	Respiratory - Screen	0	13	0	13
O x o i d L t d n = 3	I M A G E N +	3	0	3	0
	Respiratory - Screen	0	0	0	0

a Il campione dal quale l’RSV è stato isolato e tipizzato mediante coltura

Tabella 14.2.6 Sommario del confronto tra of IMAGEN Respiratory Screen con isolamento virale e un test IIF (kit VRK Bartels) per la conferma mediante coltura cellulare disponibile in commercio

		Test IIF disponibile in commercio		Neutralizzazione virale	
		+	-	+	-
IMAGEN Respiratory Screen	+	59	1 ^a	60	0
	-	0	27	0	27
Sensibilità relativa (%)		100(59/59)		100 (60/60)	
Intervalli di confidenza al 95%		(94-100%)		(94-100%)	
Specificità relativa (%)		96,4(27/28)		100 (27/27)	
Intervalli di confidenza al 95%		(82-100%)		(87-100%)	
Correlazione (%)		98,9 (86/87)		100 (87/87)	
Intervalli di confidenza al 95%		(94-100%)		(96-100%)	

a Il campione dal quale l’RSV è stato isolato e tipizzato mediante coltura

14.3. CROSS-REATTIVITÀ

I microrganismi elencati nella tabella 14.3.1 sono stati testati in IMAGEN Respiratory Screen e non hanno mostrato alcuna cross-reattività. Gli studi sulla cross-reattività sono stati eseguiti su preparazioni di vetrini di colture madre o isolati microbici recenti.

Tabella 14.3.1 Microrganismi testati con IMAGEN Respiratory Screen e risultati non-reattivi

Microorganismo	Provenienza
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10116 ²
<i>Bordetella pertussis</i> ¹	Agar cioccolato ³
<i>Branhamella catarrhalis</i> ¹	Agar cioccolato ³
<i>Candida albicans</i> ¹	Mezzo fungino ³
<i>Chlamydia pneumoniae</i> ¹	Preparazione disponibile in commercio ⁴
<i>Chlamydia psittaci</i> ¹	Preparazione disponibile in commercio ⁴
<i>Chlamydia trachomatis</i> A-K, LGV1-LGV3 ¹	Preparazione disponibile in commercio ⁴
<i>Virus Coxsackie</i> A9	Preparazione disponibile in commercio ⁵
<i>Virus Coxsackie</i> B1, B2, B3, B4, B5	Ceppi madre ⁵
<i>Citomegalovirus</i>	Isolato clinico umano ⁵
<i>Echovirus</i> 9, 11, 19, 22	Isolati clinici umani ⁵
<i>Virus di Epstein-Barr</i>	Preparato disponibile in commercio utilizzato in test sierologici di routine ²
<i>Herpes simplex virus</i> tipi 1 e 2	Preparazione disponibile in commercio ⁵
<i>Legionella pneumophila</i>	Sierogruppo 1. Preparato di lecitocole formalizzato disponibile in commercio e utilizzato nei test sierologici di routine ⁴
<i>Mycoplasma arginini</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10129 ²
<i>Mycoplasma hominis</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10111 ²
<i>Mycoplasma hyorhinus</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10130 ²
<i>Mycoplasma orale</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10112 ²
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10119 ²
<i>Mycoplasma salivarium</i>	Deposito della coltura in brodo NCTC 10113 ²
<i>Neisseria cinerea</i> ¹	Agar sangue ³
<i>Neisseria lactamica</i> ¹	Agar sangue ³
<i>Neisseria meningitidis</i> A, B, C ¹	Agar sangue ³
<i>Neisseria perflava</i> ¹	Agar sangue ³
<i>Poliovirus</i> tipi 1,2 e 3	Isolati clinici umani ⁵
<i>Pneumocystis carinii</i>	Preparato disponibile in commercio utilizzato in test sierologici di routine ⁴
<i>Rinovirus</i>	Isolato clinico umano ⁵
<i>Streptococco</i> gruppi A, B, C, D, F e G ¹	Agar Columbia ³

- Dati acquisiti presso Oxoid (Ely) Ltd.
- Strisci preparati da colture in brodo di tre giorni, centrifugate a 3000 g per 30 minuti, lavate in PBS, risospese in 100µL di PBS e 15µL di sospensione aggiunta ai pozzetti del vetrino per microscopio.
- Sospensione lattiginosa preparata in PBS da terreno di coltura, centrifugata, lavata e risospesa in 1mL di PBS e 20µL di sospensione aggiunta ai pozzetti del vetrino per microscopio.
- Preparati per vetrini disponibili in commercio.
- Strisci preparati da colture virali in provetta che mostrano un CPE al 50%, lavati, risospesi in 0,2mL di PBS e 15µL di sospensione aggiunta ai pozzetti del vetrino per microscopio.

1.

FONTI BIBLIOGRAFICHE

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) 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.

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 Rivisto Marzo 2017



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

Per l’assistenza tecnica rivolgersi al distributore locale.

Istruzioni per l’uso (IU) sostitutive e versioni in altre lingue disponibili su www.oxoid.com/IFU